

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 636 613**

51 Int. Cl.:

A23C 19/032 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.02.2005 PCT/IB2005/000427**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2005 WO05074694**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2005 E 05702525 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 1713345**

54 Título: **Productos de queso**

30 Prioridad:

04.02.2004 GB 0402474
12.02.2004 GB 0403169
17.02.2004 US 544331 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.10.2017

73 Titular/es:

DUPONT NUTRITION BIOSCIENCES APS
(100.0%)
Langebrogade 1
1411 Copenhagen K, DK

72 Inventor/es:

SCHLOTHAUER, RALF-CHRISTIAN;
RADEMACHER, INEZ;
PETERSEN, HANS-UWE;
FAERGEMAND, MERETE;
HINRICHS, JORG y
LILLEVANG, SOREN, KRISTIAN

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 636 613 T3

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

DESCRIPCIÓN

Productos de queso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición adecuada para formar un producto de queso. La invención también se refiere al uso de la composición para preparar un producto de queso y a métodos para fabricarlo.

10 Introducción

En la actualidad se emplean una serie de polisacáridos microbianos en diferentes industrias. Algunas de estas incluyen la industria alimentaria y de piensos, la agroquímica, la recuperación de petróleo crudo, la medicina y la farmacología, la química fina y los cosméticos, la tecnología de separación y la química de polímeros. Diferentes microorganismos (bacterias, hongos, levaduras o algas) producen dichos polisacáridos. Los polímeros producidos por bacterias pueden ensamblarse para producir polisacáridos capsulares ("capsular polysaccharides", CPS) que están muy asociados con la superficie celular, o pueden ser liberados al medio de crecimiento (concretamente, polisacáridos "fibrosos"). Se ha indicado que diferentes bacterias de ácido láctico ("lactic acid bacteria", LAB) de calidad alimentaria producen exopolisacáridos (EPS) (Cerning, 1990, FEMS Microbiol. Rev., 87:113-472). Las cepas de LAB que producen EPS se han empleado en la industria láctea por su capacidad para mejorar las propiedades reológicas de leches fermentadas y quesos.

Existe una gran diversidad de moléculas de EPS producidas por diferentes LAB de calidad alimentaria que pueden diferir en su composición, número de subunidades, carga eléctrica, presencia de cadenas laterales y rigidez de las moléculas. Los EPS pueden estar compuestos de diferentes tipos de monómeros de azúcares, por lo que se conocen como hetero-EPS, o pueden estar formados por un tipo de monómero de azúcar y se denominan homo-EPS.

Puede utilizarse el término exopolisacárido (EPS) para describir cualquiera de los tipos de EPS (Sutherland, I. W., 1972, Adv. Micro. Physiol., 8:143-212).

En la fabricación de queso, se ha indicado que los cultivos de acidificación iniciadores que expresan EPS mejoran la textura y la estabilidad aumentando la viscosidad y la elasticidad del producto final y uniendo agua de hidratación e interaccionando con otros constituyentes de la leche, tales como proteínas y micelas, para reforzar la rigidez de la red de caseína. Como consecuencia, los EPS pueden disminuir la sinéresis (separación del suero), mejorar la estabilidad del producto y las propiedades reológicas (Moreira *et al.*, 2003, Milchwissenschaft, 58(5/6):301).

Broadbent *et al.* han indicado que puede utilizarse un cultivo iniciador que produce EPS encapsulados, pero no fibrosos, de *Streptococcus thermophilus* para aumentar el contenido en humedad y mejorar la fundición en queso mozzarella, sin afectar de forma adversa a la viscosidad de suero (Broadbent *et al.*, 2001, Int. Dairy J., 11, 433-439).

Broadbent, *et al.* indican que los cultivos iniciadores que producen hetero-EPS durante los procesos de fabricación de queso pueden conducir a una retención mayor de humedad, lo cual da como resultado unas propiedades organolépticas mejoradas, mejor sensación en la boca, propiedades de fundición potenciadas y un aumento en la blandura (Broadbent, J. R., *et al.*, 2003, J. Dairy Sci., 86:407-423).

Además, el suministro de hetero-EPS con el cultivo iniciador se ha asociado con una reducción en la sensación arenosa del queso tras la inclusión de proteínas del suero durante el proceso de fabricación de queso (Petersen, B. L. *et al.*, 2000, J. Dairy Sci., 83:1952-1956).

Bhaskaracharya y Shah, 2000, han indicado la producción de quesos de tipo mozzarella con un contenido reducido en grasas que tienen características tales como dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, masticabilidad y gomosidad similares a sus homólogos no desgrasados cuando se emplean cultivos iniciadores de LAB que producen EPS (Bhaskaracharya y Shah, 2000, The Australian J. of Dairy Technology, 55 (3):132-138).

Sin embargo, la capacidad de los EPS para unir y retener agua también tiene un efecto adverso sobre el producto de queso. Por ejemplo, una mayor retención de agua puede producir una acidificación microbiana más rápida, lo cual puede afectar de forma adversa al sabor y la maduración del queso. Esto puede conducir potencialmente a una pérdida más rápida de las características de sabor deseadas del producto de queso y, al mismo tiempo, a un acortamiento de la caducidad. En consecuencia, esto puede conducir a pérdidas comerciales y financieras.

Además, una elevada humedad puede afectar de modo adverso a la disminución del pH del producto de queso durante la fabricación de queso. Estas condiciones pueden proporcionar un entorno adecuado para la proliferación de bacterias patógenas, tales como *E. coli* y *Listeria*.

65

Se ha sugerido que la mayoría de estos problemas surgen del hecho de que la cantidad de EPS producidos durante el proceso de fabricación de queso no pueden controlarse lo suficientemente bien cuando se emplean LAB productoras de EPS en la etapa de acidificación del proceso de fabricación de queso. Además, la retención de agua debe controlarse para obtener un producto organolépticamente aceptable.

5

Aspectos generales

En un aspecto general, la presente invención se refiere a una composición adecuada para formar queso, que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de exopolisacáridos (EPS), en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, en la que dicho microorganismo de ácido láctico es capaz de producir una enzima, y en la que dicha enzima es capaz de producir un EPS.

10

15

La presente solicitud también describe una composición en la que dicha producción de EPS se produce por separado de la acidificación por dicho cultivo de acidificación iniciador.

20

La presente solicitud también describe el uso de una composición según la invención adecuada para formar un producto de queso para mejorar uno o más de su textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, blandura, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, fundición, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, menos sensación arenosa tras la inclusión de proteínas del suero, beneficios nutricionales y/o para la salud.

25

También se describe un producto de queso con un nivel mayor de contenido en humedad residual después del periodo de escurrido y de la etapa de maduración.

30

Hasta la fecha nadie ha sugerido una composición adecuada para formar un queso por medio de un método modificado, en el que el método de fabricación de queso que emplea el cultivo iniciador esté separado del proceso de producir los EPS que se añaden a la composición a través del cultivo de fermentación de EPS.

35

Otros aspectos de la presente invención se presentan en las reivindicaciones adjuntas y en la siguiente descripción. Estos aspectos se presentan bajo distintos encabezamientos de sección. Sin embargo, se entenderá que las indicaciones en cada sección no se limitan necesariamente al encabezamiento de sección concreto.

Aspectos específicos

40

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición adecuada para formar queso, que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de exopolisacáridos (EPS), en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, en la que dicho microorganismo de ácido láctico es capaz de producir una enzima, y en la que dicha enzima es capaz de producir un EPS.

45

Según otro aspecto, la presente invención proporciona una composición en la que dicha producción de EPS se produce por separado de la acidificación por dicho cultivo de acidificación iniciador.

50

En otro aspecto, el cultivo de fermentación de EPS se forma *in situ* cultivando el microorganismo de ácido láctico con un sustrato enzimático adecuado. Un sustrato enzimático adecuado puede ser cualquier molécula de azúcar, tal como un monosacárido, di-, tri- o tetra-sacárido. El sustrato enzimático preferido es sacarosa y/o fructosa y/o glucosa y/o maltosa y/o lactosa y/o estaquiosa y/o rafinosa y/o verbascosa.

55

En otro aspecto, la presente describe también el uso de composición de la invención para preparar un producto de queso, en el que la composición comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable, en el que dicho microorganismo de ácido láctico es capaz de producir una enzima, y en el que dicha enzima es capaz de producir un EPS.

60

También se describe un producto de queso preparado empleando una composición que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable, en el que dicho microorganismo de ácido láctico es capaz de producir una enzima, y en el que dicha enzima es capaz de producir un EPS.

65

También se describe un producto de queso blando que comprende la composición descrita en la presente.

También se describe un producto de queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable y un EPS producido por dicha enzima, en el que el EPS es capaz de modular el nivel de humedad de dicho producto de queso.

5 También se describe un producto de queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable capaz de producir un EPS y un EPS producido por dicha enzima, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS es capaz de mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso que contiene dichos EPS según se describe en la presente.

15 También se describe un método para preparar un producto de queso, comprendiendo dicho método mezclar una composición, según se describe en la presente, con un medio adecuado para formar queso para formar una cuajada de queso que contiene un nivel de humedad de aproximadamente 50 % y en el que, durante la maduración del producto de queso, se pierde menos de aproximadamente 5 % de la humedad.

20 También se describe un producto de queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable capaz de producir un EPS y un EPS producido por dicha enzima, en el que dicha bacteria de ácido láctico y EPS imparten beneficios nutricionales y/o para la salud al consumidor.

25 En otro aspecto, se proporciona un proceso para la producción *in situ* de un EPS que comprende las etapas de proporcionar una composición según la invención que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable, permitir el crecimiento de dicho microorganismo de ácido láctico viable para producir un EPS y opcionalmente aislar dicho EPS.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona un proceso para la producción *in situ* de homo-EPS cultivando *Lactobacillus sakei* 570 y opcionalmente aislando el EPS.

35 También se describe un producto de queso que comprende un cultivo iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable capaz de producir un EPS y un EPS producido por dicha enzima, en el que el EPS está formado por homo-EPS y/o hetero-EPS.

Aspectos preferibles

40 En un aspecto preferido, se proporciona una composición adecuada para formar queso, que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de exopolisacáridos (EPS), en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, en la que dicho microorganismo de ácido láctico ha producido una enzima, y en la que dicha enzima ha producido un EPS.

50 Preferiblemente, el cultivo de acidificación iniciador para su uso según se describe en la presente comprende un cultivo de un microorganismo de acidificación iniciador que es capaz de fermentar el ácido láctico.

Preferiblemente, el cultivo de acidificación iniciador es un cultivo de una bacteria de ácido láctico.

55 Preferiblemente, el cultivo de la bacteria de ácido láctico de acidificación iniciador se selecciona del grupo que consiste en los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*.

Preferiblemente, el cultivo de fermentación de EPS que contiene un cultivo de un microorganismo viable para su uso según se describe en la presente es un cultivo de una bacteria de ácido láctico viable.

60 Preferiblemente, la bacteria de ácido láctico viable del cultivo de fermentación de EPS se selecciona del grupo que consiste en los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*.

65 También se describe un EPS producido *in situ* empleando un cultivo de fermentación de EPS en el que dicho EPS se produce en presencia de un sustrato enzimático adecuado seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, fructosa, glucosa, maltosa, lactosa, estaquirosa, rafinosa y verbascosa.

En otro aspecto descrito, se proporciona un EPS, en el que el EPS es un hetero-EPS producido por la bacteria de ácido láctico viable *Streptococcus thermophilus* V3 del cultivo de fermentación de EPS. También se describe un EPS, en el que el EPS es un hetero-EPS producido por la bacteria de ácido láctico viable *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 322 del cultivo de fermentación de EPS. También se describe un EPS, en el que el EPS es un homo-EPS producido por cualquiera de las bacterias de ácido láctico viables que pueden seleccionarse del grupo que consiste en *Lactobacillus sakei* ssp., *Lactobacillus plantarum* ssp., *Lactobacillus salivarium* ssp y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. En un aspecto descrito preferido, el cultivo de fermentación de EPS comprende un microorganismo viable que pertenece al género *Lactobacillus*. En un aspecto preferido, la bacteria de ácido láctico viable para su uso en la presente invención es *Lactobacillus sakei* 570. En un aspecto preferido, la bacteria de ácido láctico viable para su uso en la presente invención es *Leuconostoc mesenteroides* 808. En otro aspecto preferido, la presente invención se refiere al uso de una composición según la presente invención para preparar un producto de queso, en la que la composición comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS, en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo de ácido láctico viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, en la que dicho microorganismo de ácido láctico ha producido una enzima, y en la que dicha enzima ha producido un EPS.

También se describe un producto de queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que contiene un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima producida por dicho microorganismo de ácido láctico viable y un exopolisacárido (EPS) producido por dicha enzima, en el que la cantidad de EPS puede modularse.

También se describe que la cantidad de EPS puede modularse por el número de microorganismos de ácido láctico viables en el cultivo de fermentación de EPS, la duración de la fermentación, la temperatura de la incubación, el pH o la presencia de la molécula aceptora maltosa.

En otro aspecto preferido, el EPS es capaz de modular el nivel de humedad del producto de queso optimizando la liberación de suero durante el procesamiento de la cuajada.

En otro aspecto, el EPS es capaz de aumentar la estabilidad y/o la elasticidad de la cuajada.

En otro aspecto preferido, la cuajada de queso muestra una mayor resiliencia a las manipulaciones físicas, lo cual permite que sea manipulada con un equipo de manipulación de cuajada de queso convencional.

En otro aspecto descrito, el nivel de humedad en el queso se mantiene durante la etapa de maduración.

En otro aspecto descrito, puede alcanzarse la humedad diana en el queso después del procesamiento de la cuajada de queso.

En otro aspecto descrito, puede alcanzarse la humedad diana en el queso retrasando la liberación del suero durante el proceso de curación de la cuajada de queso.

En otro aspecto, el EPS es capaz de formar una cuajada de queso que contiene un nivel de humedad de aproximadamente 50 %.

En otro aspecto preferido, el producto de queso pierde menos del 5 % de humedad durante la etapa de maduración.

En otro aspecto descrito, el producto de queso se caracteriza por un mayor rendimiento del producto.

En otro aspecto, el producto de queso es capaz de modular el equilibrio microbiano del tracto gastrointestinal después del consumo del producto de queso.

También se describe el uso de un cultivo de fermentación de EPS según la invención, que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable capaz de producir un EPS y un EPS producido por dicha enzima, en el que dicho EPS es capaz de mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso.

Ventajas

En el siguiente comentario se presentan algunas ventajas de la presente invención.

Una ventaja principal de la presente invención es la capacidad del cultivo de fermentación de EPS comprendido en la composición de la invención de lograr la inclusión de EPS en el queso; esto unirá agua y retrasará la pérdida de peso a lo largo del periodo de maduración.

5 Las desventajas potenciales de una alta retención inicial de humedad serán superadas por el procesamiento optimizado de la cuajada y/o la adición del cultivo. Inicialmente, la humedad se retira para obtener un contenido en humedad de aproximadamente 50 % que realmente es más difícil de lograr en presencia de EPS. Por consiguiente, el proceso del queso debe optimizarse para que el queso tenga un sabor y una textura adecuados. Así, después de alcanzar el nivel de humedad del 50 %, la presencia de EPS se transforma en una ventaja por la retención de la
10 humedad residual.

Otra ventaja de la presente invención es la separación del proceso de fabricación de queso de la producción de EPS, permitiendo con ello un mejor control de la cantidad y el tipo de EPS en el queso.

15 La capacidad para modular la cantidad y el tipo de EPS producido durante el proceso de fabricación de queso permite un mejor control del nivel de humedad en el queso durante la etapa de maduración.

Otra ventaja de la presente invención es la capacidad para solucionar los problemas asociados con un alto contenido en humedad al principio del proceso del queso, por medio de lograr un nivel de humedad adecuado en el moldeado del queso, lograr la pérdida de agua correcta a lo largo del periodo de escurrido, y evitar las pérdidas a lo largo de las etapas de maduración del proceso de fabricación de queso.

Otra ventaja de la presente invención es la capacidad del cultivo de fermentación de EPS comprendido en la composición de la invención para modular al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso.

Otra ventaja según la presente invención es la capacidad del cultivo de fermentación de EPS comprendido en la composición de la invención para aumentar la caducidad del producto de queso.

Otra ventaja según la presente invención es la capacidad del cultivo de fermentación de EPS comprendido en la composición de la invención para aumentar el rendimiento del producto de queso.

Otra ventaja de la presente invención es el aumento de la estabilidad de la cuajada de queso frente a la manipulación física, lo cual permite que sea tratada con un equipo de manipulación de cuajada convencional. Esta característica ventajosa reduce el tiempo de manipulación de la cuajada de queso.

Otra ventaja descrita en la presente es la capacidad del microorganismo viable del cultivo de fermentación para producir un homo-exopolisacárido. El homo-exopolisacárido tiene una elevada capacidad de unión de agua y puede emplearse, de modo ventajoso, para modular la humedad del producto de queso. Se prefiere que el cultivo de fermentación de EPS contenga microorganismos de ácido láctico viables que sean capaces de producir homo-exopolisacáridos. Los ejemplos de dichos microorganismos de ácido láctico incluyen *Lactobacillus sakei* 570 o *Leuconostoc mesenteroides* 808.

45 De forma ventajosa, el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS puede utilizarse para producir queso basado enteramente en productos lácteos, tales como leche. En otras palabras, un producto de queso puede producirse solo a partir de productos lácteos, sin la adición, por ejemplo, de sacarosa. Como ejemplo, los productos lácteos producidos sin la adición de sacarosa serían beneficiosos para la salud dental de los consumidores del producto de queso.

50 En la presente también se analiza proporcionar un producto de queso que comprende un microorganismo viable capaz de producir una enzima y un EPS, en el que la expresión y/o el nivel de polimerización han sido modulados. La expresión y/o el nivel de polimerización puede modularse variando el número de microorganismos viables, alterando la temperatura de fermentación y/o alterando el pH del entorno y/o empleando una molécula aceptora, tal como maltosa.

Por consiguiente, dependiendo de la producción de queso prevista, la presente solicitud también describe un microorganismo viable, una enzima y un EPS, cuya expresión y/o polimerización ha sido modulada para adaptarse a la producción de diferentes tipos de queso.

60 También se describe un producto de queso que es capaz de ser utilizado en combinación con diferentes componentes farmacéuticos o en general beneficiosos para aportar un beneficio médico o en general fisiológico al consumidor. La composición también puede incorporarse en un producto con alto contenido en fibra.

65 El cultivo de fermentación de EPS puede utilizarse en combinación con diferentes componentes que son adecuados para el consumo para aportar dichas mejoras. Como ejemplo, cuando el cultivo de fermentación de EPS comprende

5 un microorganismo de ácido láctico viable que produce mono-EPS, la transferencia del homo-EPS a la corriente del suero puede no afectar a la viscosidad del suero. En el caso en que la viscosidad del suero pueda ser demasiado alta para la ultrafiltración (UF) del suero, se contempla que pueda utilizarse una enzima, tal como Dextranase™, que pueda aumentar la viscosidad. La enzima Dextranase™ se emplea de modo general en la fabricación de azúcar a partir de remolacha y es muy conocida por los expertos en la técnica.

10 De forma ventajosa, el microorganismo viable y/o la enzima producida por dicho microorganismo y/o el EPS producido por dicha enzima deben permanecer eficaces a lo largo de la fecha de "caducidad" durante la cual el producto de queso es ofrecido a la venta por el minorista. Preferiblemente, el tiempo eficaz debe extenderse más allá de dicha fecha hasta el final del periodo de frescura normal, cuando el deterioro del queso se hace evidente. Las longitudes de tiempo y de caducidad normal deseadas variarán, y los expertos en la técnica reconocerán que los tiempos de caducidad variarán entre los diferentes productos de queso y según el tamaño del producto de queso, las temperaturas de conservación, el material de envasado y el equipo de envasado.

15 Microorganismo

La composición adecuada para formar un queso según la presente invención comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS separado que contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808.

25 El término "microorganismo" incluye microorganismos y significa un organismo microscópico que puede ser unicelular o pluricelular que es capaz de crecer y desarrollarse con normalidad. El microorganismo puede ser un microorganismo natural o puede ser un microorganismo transformado. El microorganismo también puede ser una combinación de microorganismos adecuados.

30 Debe entenderse que, en la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones adjuntas, cuando se menciona "un" microorganismo o "un" agente antimicrobiano, esta referencia pretende incluir uno o más microorganismos o uno o más agentes antimicrobianos, y sus mezclas, a menos que se indique específicamente lo contrario en el texto.

35 Preferiblemente, el microorganismo es una bacteria de ácido láctico ("lactic acid bacterium", LAB). Preferiblemente, la LAB es capaz de crecer y desarrollarse con normalidad.

Opcionalmente, la LAB puede ser transformada por medio de diferentes técnicas, tales como técnicas genéticas. Tal como se emplea en la presente, el término transformado incluye a los microorganismos recombinantes. La expresión "microorganismo recombinante" significa un microorganismo que porta una secuencia de nucleótidos recombinante que codifica una enzima que es capaz de producir EPS, de modo que tanto la enzima como el EPS pueden utilizarse como componentes de una composición, según se describe en la presente. La LAB transformada también puede tener la capacidad, por ejemplo, de utilizar diferentes sustratos enzimáticos como fuente de carbono, de fermentar a un intervalo de temperatura diferente, de mostrar resistencia al ataque de bacteriófagos, de poder realizar una acidificación más rápida del medio adecuado para formar queso, cuando se compara con la LAB originaria.

45 En un aspecto preferido, el microorganismo puede seleccionarse del grupo que consiste en los géneros de bacterias de ácido láctico, tales como *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* o sus combinaciones.

50 La expresión "composición adecuada para formar un queso", tal como se emplea en la presente, describe una composición que es capaz de ser utilizada para formar un producto de queso, según se describe en la presente.

55 La composición según la presente invención comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808.

Cultivo de acidificación iniciador

60 La expresión "cultivo de acidificación iniciador", tal como se emplea en la presente, puede ser cualquier cultivo de microorganismos adecuados que sea capaz de fermentar el ácido láctico.

Preferiblemente, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador es una bacteria de ácido láctico.

65 La bacteria de ácido láctico del cultivo de acidificación iniciador puede ser una bacteria de ácido láctico natural o puede ser una bacteria de ácido láctico transformada. Preferiblemente, el cultivo de acidificación iniciador es un cultivo de una bacteria de ácido láctico (LAB) que es capaz de fermentar con normalidad un medio que es adecuado

- para la fabricación de queso. Opcionalmente, la LAB puede ser modificada por diferentes medios, tales como medios genéticos. La LAB modificada puede tener la capacidad, por ejemplo, de utilizar diferentes sustratos enzimáticos como fuente de carbono, de fermentar a un intervalo de temperatura diferente, de mostrar resistencia al ataque de bacteriófagos, de poder realizar una acidificación más rápida del medio adecuado para formar queso,
- 5 cuando se compara con la LAB originaria.
- Se contempla que el microorganismo del cultivo de acidificación pueda formar de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 3 % del medio total adecuado para formar queso.
- 10 El cultivo de acidificación iniciador puede ser una bacteria de ácido láctico termófila y/o una bacteria de ácido láctico mesófila que incluyen, pero no se limitan al grupo que consiste en los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* o sus mezclas.
- 15 Preferiblemente, la bacteria de ácido láctico del medio de acidificación iniciador pertenece al menos a uno del género *Streptococcus* o género *Lactococcus*.
- Preferiblemente, la bacteria de ácido láctico del cultivo de acidificación iniciador es capaz de acidificar el medio que es adecuado para formar queso hasta un pH de aproximadamente 4,7 a 5,3. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,8 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,9 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,0 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,1 a 5,2.
- 20 Así, un cultivo de acidificación iniciador preferiblemente comprende una bacteria de ácido láctico que se mezcla con un medio capaz de ser usado para la formación de queso, de modo que el cultivo de bacterias de ácido láctico de acidificación iniciador es capaz de acidificar el medio hasta un pH de aproximadamente 4,7 a 5,3. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,7 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,8 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,9 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,0 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,1 a 5,2.
- 25 Tal como se emplea en la presente, el término "acidificación" del medio adecuado para formar queso indica la etapa de premaduración del método para formar queso.
- 35 Cultivo de fermentación de EPS
- La expresión "cultivo de fermentación de EPS", tal como se emplea en la presente, indica un microorganismo viable capaz de sintetizar una enzima que es capaz de producir un EPS. El cultivo del microorganismo viable puede ser de cualquier microorganismo adecuado.
- 40 La expresión "microorganismo viable" significa un microorganismo que es capaz de crecer, desarrollarse y reproducirse con normalidad.
- El microorganismo viable puede ser un microorganismo viable natural o puede ser un microorganismo viable transformado. El microorganismo viable puede ser una combinación de microorganismos viables adecuados.
- 45 Preferiblemente, el microorganismo viable es una bacteria de ácido láctico (LAB) viable.
- En un aspecto descrito preferido, la bacteria de ácido láctico viable, según se describe en la presente, puede seleccionarse del grupo que consiste en los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y sus combinaciones.
- 50 En un aspecto descrito preferido, la bacteria de ácido láctico viable es una bacteria termófila y/o mesófila.
- 55 En un aspecto descrito preferido, el microorganismo de ácido láctico termófilo es *Lactococcus lactis* ssp.
- En un aspecto preferido de la invención, el microorganismo de ácido láctico termófilo contenido en el cultivo de fermentación de EPS es *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 322.
- 60 En un aspecto descrito preferido, el microorganismo viable mesófilo es *Lactobacillus sakei* ssp.
- En un aspecto preferido de la invención, el microorganismo viable contenido en el cultivo de fermentación de EPS es *Lactobacillus sakei* 570.
- 65 En un aspecto descrito preferido, el microorganismo viable mesófilo es *Leuconostoc mesenteroides* ssp.

En un aspecto preferido de la invención, el microorganismo viable contenido en el cultivo de fermentación de EPS es *Leuconostoc mesenteroides* 880.

Por consiguiente, el cultivo de fermentación de EPS de la composición de la invención contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis ssp cremoris* 332, *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, que es capaz de expresar una enzima que puede producir un EPS. Preferiblemente, la cantidad y el tipo del EPS pueden modularse, de modo que se obtiene el nivel de humedad deseado en la cuajada del queso y/o el producto de queso según la presente invención.

El término "modular", tal como se emplea en la presente, significa regular, alterar o variar. En otras palabras, se refiere a un aumento o una disminución en un parámetro concreto, según se describe en la presente. Los ejemplos de parámetros que pueden modularse incluyen el pH, la temperatura, la duración de la acidificación, la duración de la fermentación, el contenido en humedad de la cuajada del queso o del producto de queso, la formación del EPS, la textura, el sabor, las propiedades organolépticas o la sinéresis.

Para algunas realizaciones, la composición que es adecuada para formar queso comprende un microorganismo de acidificación iniciador y un microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS que pertenecen al mismo género de bacterias de ácido láctico.

Preferiblemente, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS pertenecen a diferentes géneros de bacterias.

Como ejemplo, el microorganismo de acidificación iniciador pertenece al género *Streptococcus* y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS pertenece a *Lactobacillus*.

En un aspecto descrito preferido, el microorganismo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Lactobacillus sakei*.

En un aspecto preferido de la invención, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* TH-S 100 y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Lactobacillus sakei* 570.

En un aspecto descrito preferido, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* TH-S 100 y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Lactobacillus curvatus* 853.

En un aspecto descrito preferido, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* TH-S 100 y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Lactobacillus salivarius* 1502.

Como ejemplo, el microorganismo de acidificación iniciador pertenece al género *Streptococcus* y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS pertenece a *Leuconostoc*.

En un aspecto descrito preferido, el microorganismo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Leuconostoc mesenteroides*.

En un aspecto preferido de la invención, el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador es *Streptococcus thermophilus* TH-S 100 y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS es *Leuconostoc mesenteroides* 808.

En un aspecto descrito en la presente, el cultivo de fermentación de EPS se forma *in situ* cultivando el microorganismo de ácido láctico viable en un medio comercialmente aceptable con un sustrato enzimático adecuado. En otras palabras, el cultivo de fermentación de EPS puede prepararse de modo independiente o por separado antes de añadirse al medio adecuado para formar queso en el proceso de fabricación de queso.

En un aspecto descrito en la presente, el cultivo de fermentación de EPS formado *in situ* puede añadirse al medio adecuado para formar queso junto o concomitantemente con el microorganismo de acidificación iniciador. Se prevé que, en esta realización, tanto el cultivo de acidificación iniciador como el cultivo de fermentación de EPS puedan afectar a la acidificación del medio.

Se anticipa que, en esta realización, la acidez del medio adecuado para formar queso pueda alcanzar el intervalo de pH deseado modulando o variando la temperatura de incubación y/o la duración de la acidificación y/o la cantidad de cultivo de fermentación de EPS.

Por tanto, la mezcla comprende el medio, el cultivo de acidificación iniciador y el cultivo de fermentación de EPS y puede incubarse a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 34 °C a aproximadamente 42 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 34,5 °C a aproximadamente

41,5 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 35 °C a aproximadamente 41 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 35,5 °C a aproximadamente 40,5 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 36 °C a aproximadamente 40 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 36,5 °C a aproximadamente 39,5 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 37 °C a aproximadamente 39 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 37,5 °C a aproximadamente 38,5 °C. Preferiblemente, la mezcla puede incubarse a una temperatura de aproximadamente 38 °C.

10 Nótese que, tal como se emplean en la presente, los términos "grado", "grados" y "°C" se emplean de modo intercambiable y se refieren a los mismos parámetros que indican temperatura.

15 La mezcla que comprende el medio, el cultivo de acidificación iniciador y el cultivo de fermentación de EPS puede incubarse durante aproximadamente 20 a aproximadamente 60 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 25 a 55 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 30 a aproximadamente 50 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 35 a 45 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 40 minutos.

20 En esta realización, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio puede ser de aproximadamente 12 % a aproximadamente 2 % del medio total adecuado para formar queso. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 11,5 % a aproximadamente 3,5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 11 % a aproximadamente 4 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 10,5 % a aproximadamente 4,5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 10 % a aproximadamente 5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 9,5 % a aproximadamente 5,5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 9 % a aproximadamente 6 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 8,5 % a aproximadamente 6,5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de aproximadamente 8 % a aproximadamente 7 %. Preferiblemente, es de aproximadamente 7,5 %.

35 Por consiguiente, variando la temperatura y/o la duración de la incubación y/o la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido con el cultivo iniciador al medio es posible mantener la acidez del medio dentro del intervalo de pH deseado. Es decir, las diferentes temperaturas, duraciones de la incubación y cantidades del cultivo de fermentación de EPS añadidos al medio con el cultivo de acidificación iniciador son capaces de mantener el pH del medio en el intervalo de aproximadamente 4,7 a 5,3. Preferiblemente, el pH del medio acidificado en presencia del cultivo de fermentación de EPS es de aproximadamente 4,7 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,8 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 4,9 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,0 a 5,2. Preferiblemente, el pH del medio acidificado es de aproximadamente 5,1 a 5,2.

45 En otra realización, el cultivo de fermentación de EPS formado *in situ* puede añadirse al medio después de la etapa de acidificación o de premaduración en el proceso de fabricación de queso. En otras palabras, el cultivo de fermentación de EPS puede añadirse al medio adecuado para formar queso después de que haya sido acidificado por el cultivo de acidificación iniciador. Se anticipa que, con respecto a esta realización, el intervalo de pH descrito anteriormente del medio acidificado pueda mantenerse variando la temperatura de incubación y la cantidad de cultivo de fermentación de EPS que se añade al medio.

50 Cuando el cultivo de fermentación de EPS se añade al medio según se describe en la presente, el componente de microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS tiene la capacidad de sintetizar también una enzima que es capaz de formar también un EPS.

Además, el cultivo de fermentación de EPS puede neutralizarse y/o termizarse antes de ser añadido al medio.

55 Por consiguiente, antes de suministrar el cultivo de fermentación de EPS al medio, puede "neutralizarse" mediante la adición de cualquier agente neutralizante. Como ejemplo, el cultivo de fermentación de EPS puede neutralizarse mediante la adición de cantidades adecuadas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

60 El tratamiento del cultivo de fermentación de EPS con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ provoca que el cultivo de fermentación de EPS tenga un pH en el intervalo de 6,64 a 6,74. Preferiblemente, el pH del cultivo de fermentación de EPS neutralizado está en el intervalo de 6,65 a 6,73. Preferiblemente, el pH del cultivo de fermentación de EPS neutralizado está en el intervalo de 6,66 a 6,72. Preferiblemente, el pH del cultivo de fermentación de EPS neutralizado está en el intervalo de 6,67 a 6,71. Preferiblemente, el pH del cultivo de fermentación de EPS neutralizado está en el intervalo de 6,68 a 6,70. Preferiblemente, el pH del cultivo de fermentación de EPS neutralizado está en el intervalo de 6,69 a 6,70.

65

Se pretende que, con la neutralización del cultivo de fermentación de EPS, no se vean afectadas de forma adversa la viabilidad del microorganismo, la actividad de la enzima sintetizada por el microorganismo viable y la funcionalidad del EPS. En otras palabras, la etapa de neutralización no deteriora la viabilidad del microorganismo, no inactiva ni desnatura la enzima y no evita la funcionalidad del EPS.

5 Tal como se emplea en la presente, la expresión "funcionalidad del EPS" significa un EPS que es capaz de actuar como se describe en la presente.

10 También se describe que la adición del cultivo de fermentación de EPS neutralizado al medio adecuado para formar queso no afecta de forma adversa al pH deseado. Es decir, el pH del medio adecuado para formar queso estará en el intervalo de aproximadamente 4,7 a 5,3 variando la cantidad de cultivo de fermentación de EPS neutralizado y/o la temperatura de incubación y/o la duración de periodo de acidificación.

15 También se describe que, antes de suministrar el cultivo de fermentación de EPS al medio, aquel puede "termizarse" tratando el cultivo a 65 °C durante hasta aproximadamente 20 segundos.

20 El término "termizar" se refiere a una etapa de calentamiento rápido que es capaz de incapacitar, inactivar o deteriorar la actividad metabólica normal de bacterias mesófilas. Se prevé que, para obtener un cultivo de fermentación de EPS termizado, las condiciones bajo las cuales se trata el cultivo puedan variar. Las variaciones de la temperatura para incapacitar, inactivar o deteriorar las bacterias de ácido láctico mesófilas son muy conocidas por los expertos en la técnica y pueden variar según la especie concreta. Como ejemplo, el periodo de tiempo de la etapa de termización puede reducirse si el cultivo de EPS se trata a una temperatura mayor que 65 °C.

25 Se pretende que, con la termización del cultivo de fermentación de EPS, no se vean afectadas de forma adversa la viabilidad del microorganismo, la actividad de la enzima sintetizada por el microorganismo y la funcionalidad del EPS. En otras palabras, la etapa de termización es capaz de incapacitar, inactivar o deteriorar el microorganismo, pero no de inactivar o desnaturar la enzima y no evita la funcionalidad del EPS. La termización tendrá un impacto diferente dependiendo de la sensibilidad de la cepa del microorganismo viable.

30 También se describe que la adición del cultivo de fermentación de EPS termizado al medio adecuado para formar queso no afecta de forma adversa al pH deseado. Es decir, el pH del medio adecuado para formar queso estará en el intervalo de aproximadamente 4,7 a 5,3 variando la cantidad de cultivo de fermentación de EPS termizado y/o la temperatura de incubación y/o la duración de periodo de acidificación.

35 En una realización preferida, antes de suministrar el cultivo de fermentación de EPS al medio utilizado en el proceso de fabricación de queso, el cultivo de fermentación de EPS puede "neutralizarse" y "termizarse".

40 Por consiguiente, cuando el cultivo de fermentación de EPS se neutraliza y/o termiza, se obtiene el nivel adecuado de contenido en humedad en la cuajada del queso y/o el producto de queso.

Enzima sintetizada por la LAB viable

45 La presente solicitud describe también una composición que es adecuada para formar un queso, que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación que comprende una bacteria de ácido láctico viable que produce una cantidad eficaz y/o aumentada de la enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa).

La enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) producida por la bacteria de ácido láctico viable puede ser una glucosil transferasa o una fructosil transferasa.

50 Preferiblemente, las enzimas son capaces de producir un EPS.

Otros ejemplos de enzimas que pueden ser producidas por el componente de microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS pueden encontrarse en el documento PCT/GB2003/003436.

EPS

55 La solicitud también describe un cultivo de fermentación de EPS que comprende una bacteria de ácido láctico adecuada que es capaz de sintetizar una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) que produce un EPS. La enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa), según se describe en la presente, puede ser una glucosil transferasa o una fructosil transferasa para formar EPS.

El EPS puede ser cualquier EPS adecuado.

65 El término "polisacárido" se refiere a una molécula de carbohidrato que está compuesta de más de 10 unidades de azúcares, en la que una unidad de azúcar puede ser un monosacárido, di-, tri- o tetra-sacárido.

El término "oligosacárido" se refiere a una molécula de carbohidrato que comprende menos de 10 moléculas de azúcar, en la que las moléculas de azúcar puede ser uno cualquiera o más de monosacáridos, di-, tri- o tetra-sacáridos.

5 Preferiblemente, el polisacárido y/o el oligosacárido están compuestos de monosacáridos y/o disacáridos. Como ejemplo, los monosacáridos incluyen, pero no se limitan a azúcares, tales como glucosa y fructosa, y los disacáridos incluyen, pero no se limitan a azúcares tales como sacarosa, lactosa y maltosa.

El EPS puede comprender moléculas de homopolisacáridos y/o moléculas de heteropolisacáridos.

10 Tal como se emplea en la presente, el término "homopolisacárido" significa una molécula de polisacárido que contiene solo un tipo de molécula de monosacárido, en la que la molécula de monosacárido puede ser glucosa, fructosa o galactosa.

15 Tal como se emplea en la presente, el término "heteropolisacárido" significa una molécula de polisacárido que está construida a partir de dos o más unidades de monosacárido, di-, tri- o tetra-sacárido. Como ejemplo no limitante, los monosacáridos incluyen azúcares, tales como glucosa, fructosa o galactosa, mientras que los disacáridos incluyen azúcares tales como sacarosa, lactosa o maltosa.

20 La cantidad de EPS y, por tanto, la humedad de la cuajada del queso o del queso puede modularse.

25 Cuando se emplea en el contexto del EPS, modular significa que puede regularse el nivel de polimerización del respectivo sustrato. Así, la cantidad de EPS producido puede modularse, por ejemplo, variando el número de microorganismos viables, la duración del proceso de fermentación, la temperatura y la presencia de cantidades diferentes de maltosa en el medio.

30 La cantidad de EPS producido durante la producción *in situ* del cultivo de fermentación de EPS puede modularse variando el pH de la fermentación. El intervalo de pH en el que la cantidad de producción de EPS puede aumentar está en el intervalo de pH 5,5 a pH 6,9, preferiblemente a un pH de 5,7 a pH 6,7, más preferiblemente a un pH de 5,9 a pH 6,5, aún más preferiblemente a un pH de 6,1 a pH 6,3. El pH en el que la cantidad de EPS puede reducirse está en el intervalo de 4,0 a 5,4 o de 7,0 a 8,0.

35 De forma ventajosa, la capacidad para modular la cantidad y el tipo de EPS formado en el cultivo de fermentación de EPS permite un mejor control del nivel de humedad de la cuajada del queso y/o del producto de queso.

Medio adecuado para formar queso

40 La presente solicitud describe también un medio que es adecuado para formar queso, comprendiendo dicho medio una composición que contiene un cultivo de acidificación iniciador y un microorganismo de ácido láctico viable, en el que el microorganismo de ácido láctico viable produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima capaz de catalizar la formación de EPS.

45 Según se describe en la presente, el medio puede utilizarse para producir un producto de queso que se caracteriza por una mejora en al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud.

50 Además, o como alternativa, la capacidad para modular el proceso de polimerización imparte a la cuajada del queso una mayor estabilidad y resiliencia a la manipulación física, permitiendo con ello que la cuajada del queso pueda tratarse con un equipo de manipulación de cuajada de queso convencional. Los ejemplos de equipos de manipulación de cuajada de queso convencionales son conocidos por los expertos en la técnica.

55 Tal como se emplea en la presente, la expresión "medio adecuado para formar queso" significa cualquier medio que es capaz de mantener el crecimiento de microorganismos y que es comercialmente aceptable para su consumo, tal como, por ejemplo, leche de origen lácteo o no lácteo.

Preferiblemente, el medio que es adecuado para formar queso es capaz de mantener el crecimiento de las bacterias de ácido láctico.

60 El medio lácteo puede provenir de cualquier animal de ganado lactante cuya leche es útil como fuente de alimento humana. Los ejemplos de dichos animales de ganado incluyen vacas, búfalos, cabras, llamas, ovejas, camellos y otros rumiantes.

65 En una realización preferida, la leche de vaca proporciona el medio lácteo utilizado para formar queso según la presente invención.

La "leche", tal como se ha empleado anteriormente, incluye nata, leche desnatada, leche semidesnatada, leche entera, leche en polvo que se ha reconstituido o recombinado, leche que ha sido sometida a un método de concentración (tal como evaporación o filtración con membrana), o sus combinaciones.

- 5 Otro medio adecuado que se puede utilizar para fabricar queso incluye la "leche no láctea" que puede provenir de plantas, tales como soja o arroz, o puede ser leche generada de modo sintético.

10 Algunos productos de queso pueden tener un contenido en grasas de aproximadamente 60 % a aproximadamente 10 % de materia seca. Cualquiera de estos productos de queso con diferente contenido en grasas puede beneficiarse de la composición descrita en la presente.

15 Según una realización descrita en la presente, el producto de queso es queso Camembert. El queso Camembert es un producto de queso que se caracteriza por un contenido en grasa en el intervalo de aproximadamente 40 % a aproximadamente 50 % de materia seca.

El medio que es adecuado para fabricar queso, según se describe en la presente, puede suplementarse opcionalmente con sacarosa y/o fructosa y/o glucosa y/o maltosa y/o lactosa y/o estaquiosa y/o rafinosa y/o verbascosa y/o galactosa.

20 También se describe un producto de queso que se ha fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo viable que comprende cantidades eficaces y/o aumentadas de la enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de catalizar la formación de EPS.

25 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un microorganismo de ácido láctico viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de polimerizar la sacarosa y convertirla en un EPS que comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados.

30 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Leuconostoc mesenteroides* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de polimerizar la lactosa y convertirla en un EPS. El EPS formado comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y para la salud optimizados.

35 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Leuconostoc mesenteroides* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de polimerizar la maltosa y convertirla en un EPS que comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados.

40 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Leuconostoc mesenteroides* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de polimerizar la rafinosa, la estaquiosa o la verbascosa en EPS que comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse como componente alimentario con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados. El EPS formado comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse como componente alimentario con beneficios nutricionales y para la salud optimizados. La composición que comprende el *Leuconostoc mesenteroides* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de una enzima glicosiltransferasa (transglicosilasa) o una enzima fructosil transferasa capaz de polimerizar la rafinosa, la estaquiosa o la verbascosa en EPS también puede utilizarse para fabricar queso que se caracteriza por una producción de gas reducida y/o una flatulencia reducida.

45 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Lactobacillus sakei ssp.*, *Lactobacillus plantarum ssp.* o *Lactobacillus salivarius ssp.* viable que puede producir cantidades eficaces y/o aumentadas de la enzima glucano sacarasa que es capaz de polimerizar la sacarosa y convertirla en un EPS. El EPS formado comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta y puede emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados. El EPS que forman *Lactobacillus sakei ssp.*, *Lactobacillus plantarum ssp.* o *Lactobacillus salivarius ssp.* empleando sacarosa como sustrato es un homo-exopolisacárido que comprende monómeros de moléculas de glucosa.

5 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Lactobacillus sakei ssp.*, *Lactobacillus plantarum ssp.* o *Lactobacillus salivarius ssp.* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de la enzima glucano sacarasa que es capaz de polimerizar la lactosa y convertirla en un EPS. El EPS formado comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados.

10 También se describe un producto de queso fabricado empleando un medio adecuado para fabricar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un *Lactobacillus sakei ssp.*, *Lactobacillus plantarum ssp.* o *Lactobacillus salivarius ssp.* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de la enzima glucano sacarasa que es capaz de polimerizar la rafinosa, la estaquiosa o la verbascosa y convertirlas en un EPS. El EPS formado comprende al menos un polisacárido de cadena larga o un oligosacárido de cadena corta que pueden emplearse para fabricar queso con beneficios nutricionales y/o para la salud optimizados. La composición que comprende el *Lactobacillus sakei ssp.*, *Lactobacillus plantarum ssp.* o *Lactobacillus salivarius ssp.* viable que produce cantidades eficaces y/o aumentadas de la enzima glucano sacarasa y el EPS que se forma a partir de rafinosa, estaquiosa o verbascosa como sustrato puede utilizarse para fabricar queso que se caracteriza por una producción de gas reducida o una flatulencia reducida.

20 Un producto de queso que contiene un EPS formado a partir de rafinosa, estaquiosa o verbascosa puede utilizarse para aumentar las bacterias beneficiosas para la salud en el tracto gastrointestinal. En otras palabras, el producto de queso tiene el potencial de desempeñar un papel probiótico en el tracto gastrointestinal.

25 Además, se sabe que puede producirse una hinchazón debida a una serie de factores, tales como una fermentación anómala o un patrón de fermentación irregular, que puede aliviarse hasta cierto punto por el efecto probiótico de las bacterias de ácido láctico viables y el EPS producido por las bacterias de ácido láctico viables, entre otros factores. La sensación de hinchazón en el abdomen también puede considerarse como uno de los efectos secundarios de la intolerancia a la lactosa.

30 Cuando se prepara el cultivo de fermentación de EPS para su uso según se describe en la presente, también es posible ajustar la proporción de sacarosa/maltosa, lactosa/maltosa o estaquiosa/maltosa en el medio durante la fermentación, de modo que puede obtenerse una distribución de peso molecular diana del polisacárido u oligosacárido. De forma ventajosa, la capacidad para controlar el peso molecular del polisacárido u oligosacárido puede emplearse para regular la humedad de la cuajada del queso y/o del producto de queso. Además, o como alternativa, mediante la modulación del peso molecular del polisacárido u oligosacárido, es posible mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso.

40 El medio que es adecuado para formar queso puede suplementarse opcionalmente con cualquiera de un monosacárido, di-, tri- o tetra-sacárido. En este caso, el producto de queso que es producido por el cultivo de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable contiene uno o más EPS, en el que al menos algunos (preferiblemente una gran proporción) de los EPS son moléculas de homopolisacárido.

45 El medio que es adecuado para formar queso puede suplementarse opcionalmente con dos o más de monosacáridos, di-, tri- o tetra-sacáridos. En este caso, el producto de queso que es producido por el cultivo de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable contiene uno o más EPS, en el que al menos algunos (preferiblemente una gran proporción) de los EPS son moléculas de heteropolisacáridos.

50 El medio que es adecuado para fabricar queso según la presente invención puede suplementarse opcionalmente con un extracto de levadura y/o iones magnesio (Mg^{2+}) para ayudar al crecimiento de los microorganismos de ácido láctico, que comprenden el microorganismo del cultivo de acidificación iniciador y el microorganismo viable del cultivo de fermentación de EPS.

55 La capacidad del cultivo de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable para polimerizar la lactosa permite la producción de productos lácteos sin la adición del sustrato de sacarosa. Estos productos sin sacarosa tienen un efecto perjudicial reducido sobre los dientes del consumidor.

60 Además, pueden reducirse o limitarse los problemas asociados con la presente de lactosa en un producto de queso, tales como cambios prematuros en el sabor, la textura, la sinéresis, la acidificación y, por tanto, una caducidad más corta, cuando se emplea la composición descrita en la presente.

Preparación de la composición

65 La composición puede prepararse mediante un proceso *in situ* del tipo mencionado en la presente. En este caso, los microorganismos adecuados están presentes en un medio comercialmente aceptable que puede apoyar su crecimiento y capacidad de fermentación.

Opcionalmente, los componentes de la composición pueden prepararse aislados y después combinarse para formar la composición.

5 Como ejemplo, el cultivo de acidificación iniciador puede prepararse *in situ* cultivando el microorganismo de ácido láctico en un medio comercialmente aceptable. El cultivo de acidificación iniciador producido *in situ* puede conservarse de tal forma que cuando se añade a la composición es capaz de alcanzar una densidad celular que permite al cultivo iniciador acidificar el medio hasta un pH en el intervalo de 4,7 a 5,3.

10 El EPS puede producirse *in situ* cultivando las bacterias de ácido láctico viables del cultivo de fermentación de EPS en un medio comercialmente aceptable bajo condiciones en las cuales se forma el EPS. El EPS resultante opcionalmente puede aislarse del cultivo de fermentación de EPS por medio de cualquier técnica adecuada, por ejemplo, por medio de una precipitación empleando un disolvente orgánico en el que el EPS no es soluble o tiene una solubilidad limitada. Otra forma de aislar el EPS es mediante la eliminación del agua, por ejemplo, mediante evaporación, filtración con membrana o secado por pulverización.

15 Según uno de los aspectos de la presente invención, el EPS se produce *in situ* cultivando bacterias de ácido láctico viables de *Lactobacillus sakei* 570 en un medio comercialmente aceptable bajo condiciones en las cuales se forma el EPS y opcionalmente aislando el EPS. Para algunas realizaciones de la presente invención, el medio comercialmente aceptable puede suplementarse con un sustrato enzimático adecuado.

20 Como alternativa, la composición descrita en la presente puede formarse, por ejemplo, combinando microorganismos recombinantes que están cultivados en un medio comercialmente aceptable, que no tienen que ser necesariamente microorganismos de ácido láctico.

25 Tal como se indicó anteriormente, un microorganismo recombinante puede portar una secuencia de nucleótidos recombinante que codifica una enzima que es capaz de producir EPS, de modo que tanto la enzima como el EPS pueden utilizarse como componentes de la composición, según se describe en la presente. Tal como se emplea en la presente, la expresión "nucleótido recombinante" significa que la secuencia de nucleótidos procede de un organismo diferente, es decir, no es una secuencia de nucleótidos propia.

30 Además, el componente de microorganismo de ácido láctico del cultivo de fermentación de EPS que está incluido en la composición de la presente invención también puede cultivarse por separado en un medio comercialmente aceptable hasta una densidad celular que no forme el EPS ni la enzima que produce dicho EPS. Es importante que la viabilidad del cultivo resultante se mantenga, lo cual puede lograrse por diferentes métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante secado por pulverización o liofilización.

35 Mediante la producción de la composición según se describe en la presente en un medio comercialmente aceptable, no es necesario etiquetar al producto de queso que contenga dicha composición como que contiene un aditivo.

40 Preferiblemente, cuando se forma *in situ*, el cultivo de fermentación de EPS está produciendo al menos la enzima que es capaz de formar el EPS.

45 Según una realización del proceso de la invención, la producción *in situ* de la composición comprende cultivar el cultivo de acidificación iniciador y la bacteria de ácido láctico viable en un medio comercialmente aceptable, tal como medio líquido lácteo opcionalmente suplementado con una fuente de carbono extra, que también es un sustrato enzimático adecuado, tales como los disacáridos sacarosa y/o maltosa, bajo condiciones en las que se produce la enzima y se forma el EPS.

50 Las proporciones de disacáridos pueden variar o ajustarse durante la fermentación de modo que pueda lograrse la distribución de peso molecular diana del EPS. Por tanto, alterando las proporciones de sacarosa y/o maltosa es posible regular de modo artificial el proceso de polimerización y, por tanto, modular el nivel de humedad. La capacidad para regular el proceso de polimerización puede, además, impartir a la cuajada del queso una mayor estabilidad y resiliencia a la manipulación física. Por tanto, la cuajada de queso puede tratarse de modo ventajoso con un equipo de manipulación de cuajada de queso convencional. Estos equipos de manipulación de cuajada de queso son muy conocidos por los expertos en la técnica.

55 Preferiblemente, el producto de queso obtenido mediante dicho proceso no se somete después a un tratamiento de cizallamiento intensivo.

60 La composición u, opcionalmente, cada componente aislado puede añadirse de modo ventajoso a un medio para fabricar queso adecuado para la producción de queso y otros productos con una base de queso o relacionados.

65 Por tanto, también se describe que, alterando las proporciones, por ejemplo, de maltosa y sacarosa, es posible modular el grado de polimerización de EPS empleando maltosa como molécula aceptora.

5 El uso de la composición descrita en la presente conduciría, de modo ventajoso, a la producción de un producto de queso que presenta mejoras en uno o más de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, blandura, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, forma, fundición, desuerado, estructura y/o propiedades organolépticas, menos sensación arenosa tras la inclusión de proteínas del suero, beneficios nutricionales y/o para la salud.

Aplicación a gran escala

10 En una realización preferida, la composición de la invención se emplea para aplicaciones a gran escala.

15 Preferiblemente, la composición se produce en una cantidad del 0,1 % por litro a aproximadamente 15 % por litro del volumen de cultivo celular total después de cultivar el cultivado de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable.

20 Preferiblemente, la composición se produce en una cantidad del 0,5 % por litro a aproximadamente 12,5 % por litro del volumen de cultivo celular total después de cultivar el cultivado de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable.

25 Preferiblemente, la composición se produce en una cantidad del 0,5 % por litro a aproximadamente 10 % por litro del volumen de cultivo celular total después de cultivar el cultivado de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable.

30 Preferiblemente, la composición se produce en una cantidad del 2,5 % por litro a aproximadamente 7,5 % por litro del volumen de cultivo celular total después de cultivar el cultivado de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable.

35 Preferiblemente, la composición se produce en una cantidad del 2,5 % por litro a aproximadamente 5 % por litro del volumen de cultivo celular total después de cultivar el cultivado de acidificación iniciador y el microorganismo de ácido láctico viable.

Combinación con otros componentes

40 La composición de la presente invención puede utilizarse en combinación con otros componentes.

45 La combinación puede comprender la composición de la presente invención y otros componentes que son adecuados para la fabricación de queso y el consumo animal o humano. Opcionalmente o además, la combinación es capaz de proporcionar un beneficio médico o fisiológico al consumidor.

50 Otros componentes de la combinación según se describe en la presente pueden incluir povidona, tal como Litesse®, y/o una maltodextrina. Estos otros componentes pueden añadirse opcionalmente a la composición para ayudar a la supervivencia del cultivo de acidificación iniciador y del cultivo de ácido láctico del cultivo de fermentación de EPS.

55 Otros ejemplos de componentes adecuados que pueden añadirse a la combinación en el proceso de fabricación de queso incluyen uno o más de: espesantes, agentes gelificantes, emulgentes, ligantes, modificadores de cristales, edulcorante (que incluyen edulcorantes artificiales), modificadores de la reología, estabilizantes, antioxidantes, tintes, enzimas, portadores, vehículos, excipientes, diluyentes, agentes lubricantes, agentes aromatizantes, materia colorante, agentes suspensores, disgregantes, ligantes de la granulación, etc.

60 Preferiblemente, los otros componentes incluyen extractos de levadura e iones magnesio (Mg^{2+}). Estos otros componentes pueden prepararse mediante el uso de técnicas químicas y/o enzimáticas y/o aislarse de su entorno natural.

65 Tal como se emplea en la presente, la expresión "agente espesante o gelificante" se refiere a un agente o una sustancia que evita la separación frenando o evitando el movimiento de las partículas, tanto gotas de líquidos inmiscibles como aire o sólidos insolubles. El espesamiento aparece cuando las moléculas hidratadas individuales provocan un aumento en la viscosidad, frenando la separación en el producto de queso. La gelificación aparece cuando las moléculas hidratadas se unen para formar una red tridimensional que atrapa a las partículas, con lo que las inmoviliza en el producto de queso.

El término "estabilizante", tal como se emplea en la presente, se define como un ingrediente o una combinación de ingredientes que evita que un producto (por ejemplo, un producto de queso) cambie a lo largo del tiempo. La expresión cambiar a lo largo del tiempo puede utilizarse con relación, por ejemplo, a cambios en el color, acidificación prematura, maduración prematura, separación de proteínas, sensación arenosa, sinéresis o reducción general en la caducidad del producto de queso.

El término "emulgente", tal como se emplea en la presente, se define como un ingrediente o una combinación de ingredientes (por ejemplo, un ingrediente de un producto de queso) que evita la separación de las emulsiones. Las emulsiones son dos sustancias inmiscibles, estando una presente en forma de gotas, contenidas una dentro de la otra. Las emulsiones pueden consistir de aceite en agua, en las que la gota o fase dispersada es aceite y la fase continua es agua, o de agua en aceite, en la que el agua es la fase dispersada y la fase continua es el aceite.

Las espumas, que son gases en líquidos, y las suspensiones, que son sólidos en líquidos, también pueden ser estabilizadas mediante el uso de emulgentes. Puede producirse una aireación en sistemas de tres fases, en la que el aire es atrapado por el aceite líquido y después se estabiliza por cristales de grasa aglomerados estabilizados con un emulgente. Los emulgentes poseen un grupo polar con afinidad por el agua (hidrófilo) y un grupo no polar que es atraído por el aceite (lipófilo). Son absorbidos en las interfases de las dos sustancias, con lo que proporcionan una película interfacial que actúa para estabilizar la emulsión. Las propiedades hidrófilas/lipófilas de los emulgentes se ven afectadas por la estructura de la molécula. Estas propiedades se identifican mediante el valor del equilibrio hidro-lipófilo ("hydrophilic/lipophilic balance", HLB). Unos valores bajos de HLB indican mayores tendencias lipófilas que se emplean para estabilizar las emulsiones de agua en aceite. Se asignan unos valores altos de HLB a los emulgentes hidrófilos que se emplean generalmente en emulsiones de aceite en agua. Estos valores se obtienen de sistemas sencillos. Debido a que los diferentes tipos de quesos que pueden prepararse según el método de fabricación de queso descrito en la presente a menudo contienen otros ingredientes que afectan a las propiedades de emulsión, los valores de HLB no siempre son una guía fiable para la selección del emulgente.

La expresión "modificador de cristales", tal como se emplea en la presente, se refiere a un ingrediente (por ejemplo, un ingrediente del queso) que afecta a la cristalización de la grasa o del agua. La estabilización de los cristales de hielo es importante por dos razones. La primera está directamente relacionada con la estabilidad del producto desde el punto de vista de la separación. A cuantos más ciclos de congelación/descongelación se someta a un producto de queso, más grandes se hacen los cristales de hielo. Estos cristales grandes pueden descomponer la estructura del producto, tanto la natural, como es el caso de las paredes celulares, como a la creada por "elación".

Debido a que el agua ya no se mantiene en donde tiene que estar, el producto de queso puede mostrar una sinéresis excesiva, o producción de lágrimas, después de la descongelación. Además, en el caso de un producto que se consuma helado, estos cristales grandes pueden producir una sensación en la boca arenosa, no deseada.

Los ejemplos de disgregantes incluyen uno o más de: almidón (preferiblemente almidón de maíz, patata o tapioca), almidón glicolato de sodio, croscarmelosa sodio y ciertos silicatos complejos.

Los ejemplos de ligantes de la granulación incluyen uno o más de: polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, maltosa, gelatina y goma arábiga.

Los ejemplos de agentes lubricantes incluyen uno o más de: estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

Los otros componentes pueden emplearse de modo simultáneo (por ejemplo, cuando están mezclados entre sí o incluso cuando se administran por vías diferentes) o secuencial (por ejemplo, puede administrarse por diferentes vías).

Preferiblemente, cuando la composición de la presente invención se mezcla con cualquier otro componente, el microorganismo de ácido láctico del cultivo de fermentación de EPS sigue siendo viable.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "componente adecuado para el consumo animal o humano" significa un componente que se añade o puede añadirse a la composición de la presente invención como un suplemento que puede tener un beneficio nutricional, ser un sustituto de la fibra o tener un efecto en general beneficioso para el consumidor. Preferiblemente, los ingredientes son capaces de mejorar la caducidad del producto y la estabilidad del cultivo viable.

Los componentes pueden ser prebióticos, tales como alginato, xantano, pectina, goma de algarrobbilla ("locust bean gum", LBG), inulina, goma de guar, galacto-oligosacárido (GOS), fructo-oligosacárido (FOS), lactosacarosa, oligosacáridos de soja, palatinosa, isomalto-oligosacáridos, gluco-oligosacáridos y xilo-oligosacáridos.

Tal como se emplea en la presente, el término "ligante" se refiere a un ingrediente o una combinación de ingredientes (por ejemplo, un ingrediente de un queso) que se unen al producto de queso a través de una reacción física o química. Como ejemplo, durante la "elación" se absorbe agua, que proporciona un efecto ligante. Sin embargo, los ligantes también pueden absorber líquidos, tales como aceites, manteniéndolos dentro del producto de queso. Para algunas realizaciones, los ligantes se emplean en productos de queso sólidos o con bajo contenido en humedad o bajo contenido en agua, por ejemplo, queso duro o queso semiduro.

Se ha sugerido que el EPS puede tener capacidad para actuar como ligante.

En la presente, las expresiones "bajo contenido en agua" o "bajo contenido en humedad" se emplean de modo intercambiable y significan cualquier producto de queso con menos del 20 % de agua, preferiblemente con menos del 19 %, preferiblemente con menos del 18 %, preferiblemente con menos del 17 %, preferiblemente con menos del 16 %, preferiblemente con menos del 15 %, preferiblemente con menos del 14 %, preferiblemente con menos del 13 %, preferiblemente con menos del 12 %, preferiblemente con menos del 11 %, preferiblemente con menos del 10 % o menos por peso.

Preferiblemente, los ligantes se emplean generalmente en productos de queso con alto contenido en humedad o alto contenido en agua, por ejemplo, productos de queso blando.

En la presente, las expresiones "alto contenido en agua" o "alto contenido en humedad" se emplean de modo intercambiable y significan cualquier producto de queso con un contenido en agua mayor que 20 %, preferiblemente mayor que 25 %, preferiblemente mayor que 30 %, preferiblemente mayor que 40 %, preferiblemente mayor que 50 %, preferiblemente mayor que 60 %, preferiblemente mayor que 70 % o más por peso.

La cantidad adecuada de la composición para ser utilizada en la combinación dependerá del producto de queso y/o del método para producir el producto de queso y/o del uso previsto del producto de queso. La cantidad de cultivo de acidificación iniciador y del cultivo de fermentación de EPS que comprende el microorganismo viable y/o la enzima producida por dicho microorganismo y/o el EPS producido por dicha enzima, utilizados en las composiciones, debe ser una cantidad suficiente para ser eficaz y para permanecer sustancialmente eficaz para mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, sinéresis, viscosidad, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud de los productos alimentarios que contienen dicha composición. Esta longitud de tiempo para la eficacia debe extenderse hasta al menos el momento de utilización del producto.

En un aspecto, la presente invención se basa, en parte, en la comprensión de que los rendimientos de los quesos (tales como el queso blando) pueden aumentar empleando la composición según la presente invención, que puede mejorarse aún más mediante la adición de una enzima lípido aciltransferasa. Además, o como alternativa, el queso puede tener un nivel de colesterol reducido o un mayor contenido de ésteres de fitosterol/estanol.

El aumento en el rendimiento del producto de queso puede ser del 0,1 %, preferiblemente del 0,5 %, preferiblemente del 1 %, preferiblemente del 2 %, preferiblemente del 4 %, preferiblemente del 8 %, preferiblemente del 10 %, preferiblemente del 15 % o más.

Concentrados

La presente invención también proporciona una composición, según se reivindica en la presente, en forma de un concentrado.

Generalmente, el concentrado comprende una concentración sustancialmente alta de un cultivo de acidificación iniciador y un microorganismo de ácido láctico viable y/o una enzima producida por dicho microorganismo de ácido láctico viable y/o un EPS producido por dicha enzima. Opcionalmente, cada componente de la composición puede prepararse y mantenerse como una entidad concentrada por separado que, a su vez, puede combinarse para formar una composición cuando se añade por separado, de modo simultáneo o secuencial.

Los polvos, los gránulos y las composiciones líquidas en forma de concentrados pueden diluirse con agua o resuspenderse en agua u otros diluyentes adecuados, por ejemplo, un medio de crecimiento apropiado, tal como leche o aceites minerales o vegetales o un sustrato enzimático adecuado, para producir composiciones listas para utilizar en un proceso de fabricación de queso. Preferiblemente, el diluyente es un diluyente comercialmente aceptable.

Las combinaciones de la presente invención en forma de concentrados pueden prepararse según métodos conocidos en la técnica.

En un aspecto, el producto se pone en contacto con una composición en forma concentrada. Preferiblemente, el producto se pone en contacto mediante una composición secada por pulverización y/o resuspendida.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "poner en contacto" se refiere a la aplicación directa o indirecta de la composición al medio que es adecuado para formar queso. Los ejemplos de métodos de aplicación que pueden utilizarse incluyen, pero no se limitan a la aplicación directa mezclando la composición con el medio o pulverizando la composición sobre el medio que es adecuado para formar queso.

Las composiciones de la presente invención pueden secarse por pulverización o liofilizarse mediante métodos conocidos en la técnica.

5 Los procesos típicos para fabricar partículas empleando un proceso de secado por pulverización implican un material sólido que se disuelve en un disolvente apropiado (por ejemplo, un cultivo de un microorganismo en un medio de fermentación). Como alternativa, el material puede suspenderse o emulsionarse en un no disolvente para formar una suspensión o una emulsión. Otros ingredientes (tal como se analizó anteriormente) o componentes, tales como agentes antimicrobianos, agentes estabilizantes, tintes y agentes que ayudan en el proceso de secado pueden añadirse opcionalmente en esta etapa.

10 La disolución después se atomiza para formar una niebla fina de gotas. Las gotas inmediatamente entran en una cámara de secado en donde se ponen en contacto con un gas de secado. El disolvente se evapora de las gotas hacia el gas de secado para solidificar las gotas, con lo que se forman las partículas. Las partículas después se separan del gas de secado y se recogen.

Productos

15 Cualquier producto que pueda beneficiarse de la composición según la presente invención puede emplearse en la presente invención. Estos incluyen, pero no se limitan a conservas de fruta y alimentos lácteos y productos derivados de alimentos lácteos, productos cosméticos y farmacéuticos.

20 Preferiblemente, el producto es un producto de queso.

La expresión "producto de queso", tal como se emplea en la presente, describe un producto fresco o madurado y puede ser un queso duro (tal como queso ultraduro, queso duro prensado, duro con agujeros, semiblando o madurado en la superficie), queso azul (tal como madurado con mohos internos) o un queso blando.

25 Preferiblemente, el producto de queso puede ser un producto de queso blando (tal como queso madurado con moho, queso láctico, requesón, queso de suero o queso procesado).

Preferiblemente, el producto de queso es un producto de queso blando.

30 Preferiblemente, el producto de queso blando tiene un nivel de humedad adecuado del producto de queso, según se describe en la presente, en el intervalo de aproximadamente 30 % a aproximadamente 60 % en peso. Preferiblemente, el producto de queso blando tiene un nivel de humedad adecuado del producto de queso, según se describe en la presente, en el intervalo de aproximadamente 35 % a aproximadamente 55 % en peso. Preferiblemente, el producto de queso blando tiene un nivel de humedad adecuado de aproximadamente 40 % a aproximadamente 55 % por peso.

35 Preferiblemente, el producto de queso blando tiene un nivel de humedad adecuado de aproximadamente 45 % a aproximadamente 50 % por peso.

40 Los productos de queso blando que pueden ser producidos utilizando la composición de la presente invención incluyen, pero no se limitan a Babybel, queso de cerveza, Bel Paese, Bergader (con venas), Bleu d'Auvergne (con venas), Boursault, Brie, Brillat Savarin, Brinza (o bryndza, brynza), Caciocavallo, Caciotta, Caerphilly, Camembert, Caprice des Dieux, Carre de l'Est, Chabichou, Chaource chevre = chèvre, requesón, Coulommiers, Crema Danica = Crema Dania, Doppelrhamstufe, Excelsior, Explorateur = l'Explorateur, feta, Gorgonzola (con venas), hand = handkäse = handkase = harzer kase = harzer käse, Harz, Havarti (con agujeros), Kernhem, Klosterkaese, kochkäse = kochkase, Liederkrantz, Limburger, Mainz, queso Manouri, Margotin (con pimienta y hierbas), Maroilles, Mascarpone, Mozzarella, Munster Paglietta, Neufchatel, Pannerone (con agujeros), Pont l' Evêque, Prince Jean, Pyramide, queso Reblochon, Ricotta = ricotta salata, robiola = robiola Lombardia = robiola (envejecido), Scamorza, Schloss = Schlosskäse = Schloskase, Selva, St. Andre = Saint André, Stracchino = Crescenza, Taleggio, Telemea = Teleme, tetilla (con agujeros), Tilsit (con agujeros), torta del Casar (con agujeros), tupí (producto de queso), Vacherin-Fribourgeois, Weichkaese.

50 Preferiblemente, el producto de queso blando es un producto de queso Camembert.

55 Para unas indicaciones generales sobre los diferentes tipos de queso, por ejemplo, un producto fresco o madurado que puede ser un queso duro (tal como queso ultraduro, queso duro prensado, duro con agujeros, semiblando o madurado en la superficie), queso azul (tal como madurado con mohos internos) o un queso blando, y los métodos conocidos para su fabricación, se remite a Encyclopaedia of Food Science and Food Technology, volumen 2, pp. 802-856, editado por Macrae, Robinson & Sadler, Academic Press.

60 Método de fabricación de queso

65 La presente solicitud describe un producto de queso que se ha fabricado empleando una composición adecuada para formar queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que contiene un microorganismo viable que es capaz de sintetizar una enzima que produce un EPS. La presente invención proporciona un producto de queso que se ha fabricado empleando una composición adecuada para formar

queso que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS según se reivindica en la presente.

5 La presente solicitud describe también métodos para obtener un producto de queso que comprenden añadir al medio adecuado para fabricar queso una composición que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación que comprende un microorganismo viable que es capaz de sintetizar una enzima que produce un EPS.

10 También se describe un medio que es adecuado para el consumo comprende la composición según la presente invención.

15 Por consiguiente, los expertos en la técnica conocen los diferentes tipos de productos de queso y los métodos para su fabricación. Se prevé que la composición de la presente invención pueda utilizarse en uno cualquiera de los métodos conocidos para formar diferentes tipos de queso para producir un producto de queso.

Como ejemplo no limitante, a continuación se describe un método que puede utilizarse para formar un producto de queso empleando la composición según la presente invención.

20 Tal como se indicó anteriormente, los diferentes componentes de la composición, concretamente, un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que comprende un microorganismo de ácido láctico viable y/o una enzima capaz de formar un EPS y/o el EPS pueden añadirse al medio adecuado para formar queso por separado, de modo simultáneo o secuencial.

25 Se prevé que la composición según se describe en la presente, cuando se añade al medio adecuado para formar queso, debe estar a un nivel de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 15 % por peso. Se anticipa que el microorganismo del cultivo acidificación puede comprender de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 5 % del total del medio.

30 La cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio puede ser de aproximadamente 12 % a aproximadamente 2 % del medio total. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de 11 % a aproximadamente 3 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de 10 % a aproximadamente 4 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de 9 % a aproximadamente 5 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de 8 % a aproximadamente 6 %. Preferiblemente, la cantidad de cultivo de fermentación de EPS añadido al medio es de 7,5 % a aproximadamente 6,5 %. Tal como se indicó anteriormente, variando la cantidad de cultivo de fermentación de EPS que se añade al medio adecuado para formar queso, es posible mantener el pH del medio acidificado y el contenido en humedad de la cuajada y del queso.

40 Opcionalmente, el medio adecuado para formar queso puede suplementarse con una cantidad predeterminada, por ejemplo, de una disolución al 50 % de CaCl₂. El medio también puede suplementarse opcionalmente con un sustrato enzimático adecuado, por ejemplo, sacarosa.

45 Se prefiere que, para algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se prepara queso de Camembert, puedan añadirse esporas fúngicas (moho) en la etapa de preacidificación del proceso de fabricación de queso. Las esporas fúngicas puede proceder de *P. candidum* o *P. camemberti*.

Por consiguiente, un medio que es adecuado para formar queso es capaz de ser acidificado por el cultivo de acidificación iniciador.

50 El cultivo de fermentación de EPS puede añadirse al medio que es para formar queso antes, después o durante la acidificación del medio.

55 En algunas realizaciones, el cultivo de fermentación de EPS puede neutralizarse y/o termizarse. Se prevé que el cultivo de fermentación de EPS no afecte de modo adverso al pH del medio acidificado.

60 Así, la mezcla acidificada que contiene el cultivo de acidificación iniciador y el cultivo de fermentación de EPS tiene un pH de aproximadamente 4,7 a 5,3. Preferiblemente, el pH de la mezcla acidificada es de aproximadamente 4,8 a 5,3. Preferiblemente, el pH de la mezcla acidificada es de aproximadamente 4,9 a 5,2. Preferiblemente, el pH de la mezcla acidificada es de aproximadamente 5,0 a 5,2.

Tal como se indicó anteriormente, en esta etapa del método, el pH de la mezcla puede dentro del intervalo anterior añadiendo diferentes cantidades del cultivo de fermentación de EPS y modulando la temperatura de incubación.

65 Así, la mezcla que comprende el medio, el cultivo de acidificación iniciador y el cultivo de fermentación de EPS se incuba a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 34 °C a aproximadamente 42 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 34,5 °C a aproximadamente 41,5 °C. Preferiblemente, la

- mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 35 °C a aproximadamente 41 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 35,5 °C a aproximadamente 40,5 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 36 °C a aproximadamente 40 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 36,5 °C a aproximadamente 39,5 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 37 °C a aproximadamente 39 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 37,5 °C a aproximadamente 38,5 °C. Preferiblemente, la mezcla se incuba a una temperatura de aproximadamente 38 °C.
- Generalmente, la etapa de acidificación es de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 minutos, preferiblemente de aproximadamente 25 a 55 minutos, preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 minutos, preferiblemente de aproximadamente 35 a 45 minutos, preferiblemente de aproximadamente 40 minutos.
- Tal como se indicó anteriormente, según una realización, el cultivo de fermentación de EPS puede añadirse al proceso de fabricación de queso después de la etapa de acidificación. Es decir, el cultivo de fermentación de EPS puede añadirse al medio acidificado después de que haya sido acidificado por el medio de acidificación iniciador. Por consiguiente, cuando el cultivo de fermentación de EPS se añade al medio después de la etapa de acidificación, es posible modular la humedad de la cuajada y/o del queso variando las cantidades del cultivo de fermentación de EPS.
- La mezcla acidificada después se somete a una coagulación empleando un agente coagulante. Generalmente, se añade un agente coagulante (por ejemplo, cuajo, tal como quimosina, en general a aproximadamente 1:15 000 o 250 ml de cuajo por cada 1.000 litros de medio). La mezcla resultante se agita durante aproximadamente 5 minutos, tras lo cual se incuba durante aproximadamente 1 a aproximadamente 25 minutos a una temperatura de aproximadamente 34 °C a aproximadamente 42 °C. Preferiblemente, el cuajo se añade a la mezcla durante aproximadamente 5 a aproximadamente 20 minutos a una temperatura de aproximadamente 35 °C a aproximadamente 41 °C. Preferiblemente, el cuajo se añade a la mezcla durante aproximadamente 10 a aproximadamente 15 minutos a 36 °C a aproximadamente 39 °C.
- Preferiblemente, el pH del medio durante la etapa de tratamiento con cuajo es de aproximadamente 6,2 a 6,6. Preferiblemente, el pH durante la etapa de coagulación es de aproximadamente 6,3 a aproximadamente 6,5. Preferiblemente, el pH durante la etapa de coagulación es de aproximadamente 6,4.
- Después de la coagulación de la cuajada, el coágulo puede cortarse empleando cualquier dispositivo para cortar cuajada adecuado, por ejemplo, cuchillos Omega" (12,8 mm).
- Después de cortar la cuajada, los granos o fragmentos se agitan en suero durante aproximadamente 30 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 40 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 50 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 60 minutos.
- En otro aspecto de la presente invención, los diferentes tipos y cantidades de EPS pueden modular el contenido en humedad en la cuajada durante el procesamiento de la cuajada. Es decir, la presencia de EPS en la cuajada tiene la capacidad de limitar, disminuir o reducir la liberación o pérdida de humedad de la cuajada durante la manipulación de la cuajada.
- Así, según un aspecto preferido de la presente invención, la presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS tiene la capacidad de aumentar o mejorar la resiliencia de la cuajada a las manipulaciones físicas, de modo que la cuajada puede ser manipulada con un equipo de manipulación de cuajada convencional. Los expertos en la técnica conocen este tipo de equipo.
- La presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS en la cuajada permite el procesamiento con una pérdida de humedad reducida. Por consiguiente, la presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS en la cuajada es capaz de reducir la liberación de humedad durante la etapa de maduración en 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 % 9 % 10 % o más, cuando se compara con una muestra de cuajada control que no contiene la composición según la presente invención.
- Según un aspecto de la presente invención, la presencia de diferentes tipos y/o cantidades de EPS en la cuajada tiene la capacidad de mantener la humedad en la cuajada durante la formación en el molde o el proceso de dar forma al queso.
- Se prevé que la mayor parte de la pérdida de humedad que se observa durante el proceso de fabricación de queso se produce en la etapa del moldeado.
- De forma ventajosa, los diferentes tipos y cantidades de EPS en la cuajada permiten el moldeado con una pérdida de humedad reducida. Por consiguiente, la presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS en la cuajada es capaz de reducir la liberación de humedad durante la etapa de moldeado en 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 % 9 % 10 % más, cuando se compara con una muestra de cuajada control que no contiene la composición según la presente invención.

Según un aspecto de la presente invención, los diferentes tipos y cantidades de EPS presentes en la cuajada son capaces de modular el nivel de humedad en la cuajada durante la etapa de drenaje o escurrido. La capacidad del EPS para retener agua en esta etapa del proceso de fabricación de queso sería ventajosa para obtener el nivel de agua o humedad diana inmediatamente después de la etapa de enfriamiento/salazón del proceso.

5 Tal como se emplean en la presente, los términos "drenado" o "escurrido" describen la etapa de drenar el suero de la cuajada.

10 La presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS en la cuajada es capaz de modular el nivel de humedad en la cuajada durante la etapa de drenado en al menos 1 %, preferiblemente en al menos 2 %, preferiblemente en al menos 3 %, preferiblemente en al menos 4 %, preferiblemente en al menos 5 %, preferiblemente en al menos 6 %, preferiblemente en al menos 7 %, preferiblemente en al menos 8 %, preferiblemente en al menos 9 %, preferiblemente en al menos 10 %, preferiblemente en al menos 11 %, preferiblemente en al menos 12 %, preferiblemente en al menos 13 %, preferiblemente en al menos 14 %, preferiblemente en al menos 15 %, preferiblemente en al menos 16 %, preferiblemente en al menos 17 %, preferiblemente en al menos 18 %, preferiblemente en al menos 19 %, preferiblemente en al menos 20 %, preferiblemente en al menos 21 %, preferiblemente en al menos 22 %, preferiblemente en al menos 23 %, preferiblemente en al menos 24 %, preferiblemente en al menos 25 %, preferiblemente en al menos 26 %, preferiblemente en al menos 27 %, preferiblemente en al menos 28 %, preferiblemente en al menos 29 %, preferiblemente en al menos 30 % o más, cuando se compara con una muestra de cuajada control que no se ha formado con la composición según la presente invención.

25 Preferiblemente, durante la etapa de drenado, la cuajada contendrá de aproximadamente 16 % de sólidos totales a aproximadamente 60 % de sólidos totales. Preferiblemente, durante la etapa de drenado, la cuajada contendrá de aproximadamente 20 % de sólidos totales a aproximadamente 55 % de sólidos totales. Preferiblemente, durante la etapa de drenado, la cuajada contendrá de aproximadamente 25 % de sólidos totales a aproximadamente 50 % de sólidos totales. Preferiblemente, durante la etapa de drenado, la cuajada contendrá de aproximadamente 30 % de sólidos totales a aproximadamente 40 % de sólidos totales.

30 Preferiblemente, la capacidad del EPS para modular el nivel de humedad en la cuajada sería ventajosa para obtener el nivel de agua diana inmediatamente después de la etapa de enfriamiento/salazón del proceso, según se describe a continuación.

35 Durante la etapa de drenado, la cuajada en los moldes se incuba a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 21 °C a 26 °C, preferiblemente de aproximadamente 21,5 a aproximadamente 25,5, preferiblemente de aproximadamente 22 °C a 25 °C, preferiblemente a aproximadamente 22,5 a aproximadamente 24,5, preferiblemente de aproximadamente 23 a 24 °C.

40 Preferiblemente, el pH de la cuajada durante la etapa de drenado se encuentra en el intervalo de aproximadamente 5,6 a aproximadamente 6,5, preferiblemente de aproximadamente 5,7 a aproximadamente 6,4, preferiblemente de aproximadamente 5,8 a aproximadamente 6,2, y preferiblemente el pH de la cuajada es de aproximadamente 5,9 a 6,2. Se prefiere que el pH de la cuajada sea menor que aproximadamente 6,2.

45 Generalmente, el periodo de incubación de la cuajada en los moldes es el tiempo que tarda el pH de la cuajada para alcanzar el anterior intervalo de pH.

50 Después de la etapa de drenado del proceso para fabricar queso, la cuajada, que está introducida en los moldes, puede colocarse a un intervalo de temperatura de aproximadamente 21 °C a 26 °C, preferiblemente de aproximadamente 21,5 a aproximadamente 25,5, preferiblemente de aproximadamente 22 °C a 25 °C, preferiblemente de aproximadamente 22,5 a aproximadamente 24,5, preferiblemente de aproximadamente 23 a 24 °C y se voltea de 4 a 6 veces dentro de 4 a 5 horas y después de vez en cuando hasta que el pH alcance un intervalo de 4,6 a 5,3, preferiblemente hasta que el pH se encuentre en el intervalo de 4,7 a 5,2. Preferiblemente, el pH de la cuajada es de aproximadamente 5,1. Preferiblemente, el pH es de aproximadamente 5,2. Esta etapa del proceso de fabricación de queso se ha denominado de "volteo" o "etapa de drenado", cuando el suero se retira aún más de la cuajada.

55 Después de la etapa de drenado, los moldes que contienen la cuajada se enfrían a una temperatura de aproximadamente 10 °C a 14 °C, preferiblemente de aproximadamente 11 °C a 13 °C. Preferiblemente, el enfriamiento de la cuajada se realiza a aproximadamente 12 °C.

60 Durante el proceso de enfriamiento, el pH se mantiene en el intervalo de aproximadamente 5,0 a 5,4, preferiblemente el pH está en el intervalo de aproximadamente 5,05 a 5,35, preferiblemente el pH está en el intervalo de aproximadamente 5,1 a 5,3, preferiblemente el pH está en el intervalo de aproximadamente 5,15 a 5,25, preferiblemente el pH es de aproximadamente 5,2.

El periodo de tiempo del enfriamiento es de aproximadamente 20 a aproximadamente 26 horas, preferiblemente de aproximadamente 21 a 25 horas, preferiblemente de aproximadamente 22 a 24 horas. Preferiblemente, la cuajada se enfría durante aproximadamente 24 horas.

5 Después del enfriamiento se forma un producto de queso bruto. La expresión "queso bruto", tal como se emplea en la presente, significa un producto de queso que no ha sido tratado mediante una salazón con salmuera y no es lo suficientemente maduro como para ser consumido como un producto de queso final.

10 El queso bruto puede incubarse opcionalmente en salmuera. Esta etapa del proceso se conoce como salazón. El queso bruto puede incubarse en salmuera durante aproximadamente 40 minutos a 120 minutos, preferiblemente de aproximadamente 50 minutos a 100 minutos, preferiblemente durante aproximadamente 75 minutos.

15 El pH de la etapa de salazón se mantiene dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 4,5 a 5,3, preferiblemente de aproximadamente 4,6 a aproximadamente 5,2, preferiblemente de aproximadamente 4,7 a 5,1, preferiblemente de aproximadamente 4,8 a 5,0. Preferiblemente, el pH del queso bruto se mantiene a aproximadamente 5,2.

20 Opcionalmente, o como alternativa, al queso bruto se le puede aplicar sal sobre su superficie de modo que las esporas fúngicas pueden aplicarse opcionalmente en la superficie. Las esporas del moho pueden pulverizarse sobre la superficie del queso bruto salado.

25 En el contexto de la presente invención se contempla que la presencia de diferentes tipos y cantidades de EPS es capaz de mantener la humedad en la cuajada del queso en el intervalo de aproximadamente 40 % o 55 %, cuando se compara con una muestra de cuajada de queso control que no se ha formado con la composición según la presente invención.

El nivel de humedad inmediatamente después de la etapa de enfriamiento/salazón del proceso de fabricación de queso se denomina nivel de humedad diana.

30 Preferiblemente, el nivel de humedad diana mantenido en la cuajada del queso es de aproximadamente 50 % justo después de la etapa de enfriamiento/salazón.

35 La maduración de la cuajada de queso para producir queso generalmente se realiza a un intervalo de temperatura de aproximadamente 14 a aproximadamente 18 °C, preferiblemente de aproximadamente 15 a aproximadamente 17 °C, preferiblemente a aproximadamente 16 °C. Se prefiere que la temperatura de maduración sea de aproximadamente 16 °C.

40 Según un aspecto de la presente invención, los diferentes tipos y cantidades de EPS pueden limitar, minimizar o reducir la pérdida del contenido en humedad desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración.

Preferiblemente, el producto presenta menos del 5 % de pérdida de humedad desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración.

45 Preferiblemente, la pérdida de humedad del producto de queso desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración es menor que 4 %. Preferiblemente, la pérdida de humedad del producto de queso desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración es menor que 3 %. Preferiblemente, la pérdida de humedad del producto de queso desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración es menor que 2 %. Preferiblemente, la pérdida de humedad del producto de queso desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración es menor que 1 %. Preferiblemente, la pérdida de humedad del producto de queso desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración es menor que 0,5 %.

Se prevé que puede no haber una pérdida de humedad detectable evidente desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración del proceso de fabricación de queso.

55 Un producto de queso que se caracteriza por menos del 5 % de pérdida de humedad desde la etapa de enfriamiento/salazón hasta la etapa de maduración del proceso de fabricación de queso se mantendrá dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5,5 a 6,0, preferiblemente de aproximadamente 5,55 a 5,95, preferiblemente de aproximadamente 5,6 a 5,9, preferiblemente de aproximadamente 5,65 a 5,85, preferiblemente de aproximadamente 5,7 a 5,8, preferiblemente de aproximadamente 5,75.

60 La capacidad de la composición según se describe en la presente para mantener el pH del producto de queso dentro del intervalo descrito anteriormente beneficiaría potencialmente al queso retrasando o evitando, por ejemplo, el crecimiento de microorganismos acidúricos y patógenos, tales como *E. coli* 0157 y/o *Listeria* durante la caducidad del queso.

65

Durante la etapa de maduración, el queso se coloca de aproximadamente 12 °C a aproximadamente 18 °C, preferiblemente de aproximadamente 13 °C a aproximadamente 17 °C, preferiblemente de aproximadamente 14 a aproximadamente 16 °C. Preferiblemente, el queso que se va a madurar se coloca a aproximadamente 16 °C. La maduración puede realizarse durante aproximadamente 6-12 días, con volteos diarios, hasta que resulta evidente un crecimiento abundante de moho blanco. Como alternativa, el queso puede madurarse sobre alfombrillas de plástico en grandes bañeras de plástico con las tapas ligeramente abiertas para que entre un poco de oxígeno para el crecimiento del moho.

Después de la etapa de maduración, el producto de queso puede envasarse y dejar que madure aún más a un intervalo de temperatura de 3 °C a 7 °C, preferiblemente en el intervalo de 4 °C a 6 °C.

Los productos de queso obtenidos empleando la composición descrita en la presente o según la presente invención pueden tener una caducidad más larga. La caducidad de un producto de queso concreto puede variar dependiente del tipo de queso que se ha producido.

La caducidad de un producto de queso concreto es muy conocida por los expertos en la técnica. Así, según la presente invención, es posible extender la caducidad del producto de queso en al menos 1 día, preferiblemente en 2 días, preferiblemente en 3 días, preferiblemente en 4 días, preferiblemente en 5 días, preferiblemente en 6 días, preferiblemente en 7 días o más.

El proceso de maduración a veces se denomina "envejecimiento" o "curación". Todos los principales componentes del queso, es decir, los carbohidratos, las proteínas y la grasa, son sometidos a cambios durante el envejecimiento. A través de una diversidad compleja de procesos metabólicos, por ejemplo, lipólisis y proteólisis enzimáticas, estos componentes principales se metabolizan a ácido láctico, péptidos, aminoácidos y ácidos grasos. Estos pueden contribuir a una movilización del agua que puede conducir a sinéresis en el producto de queso y, por tanto, afectar de modo adverso al sabor, la acidificación del producto y la reducción de la caducidad del producto.

Así, según un aspecto, un producto de queso obtenido según el método descrito en la presente comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que consiste en un microorganismo de ácido láctico viable, una enzima derivada de dicho microorganismo de ácido láctico viable capaz de producir un EPS y un EPS producido por dicha enzima, en el que dicho cultivo de fermentación de EPS es capaz de mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso que contiene dichos EPS según se describe en la presente.

Alimentos funcionales

La composición de la presente invención también puede ser cualquier alimento funcional o puede ser añadida a estos.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "alimento funcional" significa un producto que es capaz de proporcionar no solo un efecto nutricional y/o de satisfacción del gusto, sino que también es capaz de suministrar otro efecto beneficioso al consumidor.

Por consiguiente, los alimentos funcionales son alimentos normales en los que se han incorporado componentes o ingredientes (tales como los descritos en la presente) que imparten al alimento una efecto funcional especial, por ejemplo, un beneficio médico o fisiológico, distinto de un efecto puramente nutricional.

Aunque no existe una definición legal de alimento funcional, la mayoría de las partes que tienen interés en esta área están de acuerdo en que son alimentos comercializados que tienen unos efectos para la salud específicos.

Algunos alimentos funcionales son nutracéuticos. En la presente, el término "nutracéutico" significa un alimento que es capaz de proporcionar no solo un efecto nutricional y/o de satisfacción del gusto, sino que también es capaz de suministrar un efecto terapéutico (u otro efecto beneficioso) al consumidor. Los nutracéuticos atraviesan la línea divisoria tradicional entre alimentos y medicinas.

Las investigaciones han sugerido que a los consumidores les interesan más las afirmaciones de los alimentos funcionales que se relacionan con enfermedades cardíacas. La prevención del cáncer es otro aspecto de la nutrición que interesa mucho a los consumidores, pero, de forma interesante, esta es el área sobre la cual los consumidores piensan que tienen menos control. De hecho, según la Organización Mundial de la Salud, al menos 35 % de los casos de cáncer están relacionados con la dieta. Además, las afirmaciones relacionadas con la osteoporosis, la salud intestinal y los efectos de la obesidad también son factores clave que pueden incitar a la compra de alimentos funcionales y dirigir el desarrollo del mercado.

Según un aspecto, la composición que comprende un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de EPS que es capaz de sintetizar una enzima que forma un EPS puede añadirse o ser empleada en la preparación

de un producto de alimento funcional, en el que dicho producto es capaz de impartir beneficios nutricionales y para la salud al consumidor.

Suplemento de fibra

5 En otro aspecto, la composición de la presente invención puede utilizarse como suplemento de fibra o en la preparación de un suplemento de fibra.

10 Al principio, el éxito de un producto alimentario se asociada casi por completo a la palabra "fibra" o, posteriormente, "salvado". A pesar de estudios contradictorios sobre los atributos específicos para la salud de la fibra, el consenso general entre expertos y consumidores es que la mayoría de las personas necesitan más fibra en su dieta. La fibra además ha demostrado ser útil por sus propiedades funcionales, tales como la absorción de agua y el aumento de volumen de los alimentos reducidos en grasas.

15 A la fibra se le han dado varios nombres a lo largo de los años, que incluyen "fibra alimenticia," "fibra dietética," "salvado", "fibra", "restos vegetales", "plantix" y "carbohidratos no disponibles". Incluso hoy, desarrollar una definición concisa, pero completa, para la fibra dietética no es una tarea fácil, porque la fibra dietética es una matriz compleja de diversos componentes definidos de modo distinto en diversas disciplinas científicas.

20 En la presente, el término fibra se emplea en el contexto de los alimentos y, así, se denomina material no digerible. De modo específico, la fibra consiste en celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucílagos y lignina.

25 No todas las fuentes de fibra contienen todos estos componentes. De hecho, el número tan grande de combinaciones potenciales provoca la amplia diversidad de efectos fisiológicos y funcionales diferentes que se observan en diferentes ingredientes de fibra. Por la misma razón, no toda fuente de fibra es fibra dietética al 100 %.

30 Diane Lardiere, directora nacional de marketing y ventas de Canadian Harvest, Cambridge, MN, afirma que la fibra dietética total ("total dietary fibre", TDF) se define como carbohidratos no digeribles. También indica que el salvado de trigo es solo 40 % de TDF, pero se considera un ingrediente de fibra.

Así, la composición de la presente invención puede añadirse a suplementos de fibra.

35 La composición de la invención puede utilizarse como suplemento a una dieta en combinación con diferentes fuentes de fibra convencionales, tal como se ha detallado anteriormente.

40 La dosis recomendada de ingesta de fibra para adultos es de entre 20 y 35 gramos diarios o 10-13 gramos por cada 1000 calorías consumida, y para niños, en general, la ingesta se basa en su edad o peso, y es de 0,5 gramos de fibra por kilogramo de peso corporal (o 0,23 gramos por libra de peso corporal) con un límite superior de 35 gramos de fibra diarios.

45 También se describe un medio que asegura que puede alcanzarse la ingesta de fibra diaria recomendada (20-35 gramos diarios o 10-13 gramos por cada 1000 calorías consumidas). Estos comprimidos, píldoras, cápsulas, óvulos, disoluciones o suspensiones pueden formularse para que sustituyan a comidas y tentempiés, en especial durante el comienzo de un programa de pérdida de peso.

Una cuestión importante desde el punto de vista de la salud consiste en que cuando los comprimidos, las píldoras, las cápsulas, los óvulos, las disoluciones o las suspensiones se toman con las comidas, esto ayuda a reducir el consiguiente aumento en la glucosa en sangre después de comer y potencia la saciedad.

50 La solicitud también incluye en su alcance que la composición de la presente invención se incorpore en una bebida con fibra. Las investigaciones han indicado que la fibra soluble puede ayudar a mantener la salud digestiva y que una dieta rica en fibra soluble (al menos 25 gramos diarios) puede ayudar a mantener normales los niveles de colesterol.

Probiótico

55 Según un aspecto de la presente invención, la composición se emplea para preparar un producto de queso que es capaz de modular el equilibrio microbiano del tracto gastrointestinal después del consumo del producto de queso. En otras palabras, la composición según la presente invención puede utilizarse para la producción de productos de queso que se caracterizan por un efecto probiótico.

60 Para algunas aplicaciones, se cree que los microorganismo de ácido láctico viables en la composición de la presente invención pueden ejercer un efecto de cultivo probiótico en el tracto gastrointestinal. En la presente, un prebiótico es:

"un ingrediente alimentario no digerible que afecta de modo beneficioso al hospedante estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una bacteria o de un número limitado de bacterias en el colon" (Am. Clin. Nutr., 2001, 73:406S-409S).

5 Según un informe de consenso (van Loo *et al.*, 1999, Br. J. Nutr., 81: 121-132), la definición de prebiótico es un aumento en el número y/o actividad principalmente de bifidobacterias o bacterias de ácido láctico en el tracto gastrointestinal. En la presente, se sabe que las bifidobacterias pueden ayudar a luchar contra una amplia gama de bacterias perjudiciales y que intoxican los alimentos, que incluyen *E. coli* 0157 y *E. coli* H88, potencialmente mortales. Además se sabe que las bifidobacterias pueden evitar que los niños pequeños sufran diarrea. El *Lactobacillus* GG puede ayudar a tratar la diarrea asociada con antibiótico, y también ha demostrado ser eficaz para tratar algunos casos de diarrea del turista e infecciones por rotavirus, la causa más habitual de diarrea en niños a nivel mundial.

15 En la presente también se describe la adición de la composición de la presente invención a otros cultivos probióticos.

La expresión "cultivo probiótico", tal como se emplea en la presente, define un microorganismo viable que es capaz de afectar, de modo beneficioso, al organismo hospedante mejorando su equilibrio microbiano intestinal. El término "probiótico", tal como se emplea en la presente, incluye también a microorganismos viables que pueden estimular las ramas beneficiosas del sistema inmunológico y, al mismo tiempo, disminuir la mayoría de las reacciones inflamatorias en el intestino. A este respecto, también se describe el uso de una composición que contiene dicho ingrediente probiótico para una terapia anticáncer y para la prevención de alergias y de la colitis ulcerosa.

20 Aunque no existen límites inferiores o superiores para la ingesta de probióticos, se ha sugerido que al menos 10.000 células viables por ml de producto otorgan al microorganismo una oportunidad competitiva dentro de la flora intestinal.

Además, también se describe el suministro de prebióticos como otros componentes que pueden incluirse en una combinación junto con la composición de la presente invención. El componente de prebiótico de la combinación que comprende la composición de la presente invención se caracteriza por una fermentación lenta en el intestino grueso. Estos prebióticos pueden ejercer un efecto positivo sobre la flora intestinal, de modo específico en el lado izquierdo de colon, un área del intestino que es especialmente propensa a trastornos, en concreto, cáncer de intestino y colitis ulcerosa.

35 Simbiótico

La presente solicitud también describe el uso de pre- y probióticos como ingredientes en una combinación junto con la composición de la presente invención que, cuando se combinan, se transforman en simbióticos.

40 El objetivo de esto es combinar los efectos de bacterias beneficiosas nuevas y la estimulación de las bacterias beneficiosas del propio cuerpo. Existe un gran potencial en el desarrollo y el consumo de estas mezclas, puesto que algunas de ellas pueden mostrar efectos nutricionales sinérgicos poderosos.

Por tanto, la composición de la presente invención puede diseñarse específicamente para que contenga diferentes componentes que pueden proporcionar un efecto simbiótico al consumidor.

45 Producto farmacéutico

La composición de la presente invención puede utilizarse como producto farmacéutico o en la preparación de un producto farmacéutico. En la presente, la expresión "producto farmacéutico" se emplea en un sentido amplio y abarca los productos farmacéuticos para seres humanos y los productos farmacéuticos para animales (es decir, aplicaciones veterinarias). En un aspecto preferido, el producto farmacéutico es para uso humano y/o para cría de animales.

55 El producto farmacéutico puede tener fines terapéuticos, que pueden tener una naturaleza curativa, paliativa o preventiva. El producto farmacéutico incluso puede utilizarse para fines de diagnóstico.

60 Cuando se emplea como producto farmacéutico o en la preparación de un producto farmacéutico, la composición de la presente invención puede usarse junto con uno o más de un vehículo farmacéuticamente aceptable, un diluyente farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable, un adyuvante farmacéuticamente aceptable, un ingrediente activo farmacéuticamente aceptable.

El producto farmacéutico puede estar en forma de una disolución o como un sólido, dependiendo del uso y/o del modo de aplicación y/o de la vía de administración.

65

Ingrediente farmacéutico

La composición de la presente invención puede utilizarse como ingrediente farmacéutico. En la presente, la composición puede ser el único componente activo o puede ser al menos uno de una serie (es decir, 2 o más) de componentes activos.

El ingrediente farmacéutico puede estar en forma de una disolución o como un sólido, dependiendo del uso y/o del modo de aplicación y/o de la vía de administración.

Formas

La composición de la presente invención puede utilizarse en cualquier forma adecuada, tanto cuando se emplea por sí sola como cuando está presente en una combinación con otros componentes o ingredientes. De modo similar, las combinaciones que comprenden la composición de la presente invención y otros componentes y/o ingredientes (concretamente ingredientes tales como ingredientes alimentarios, ingredientes farmacéuticos o ingredientes de alimentos funcionales) pueden emplearse en cualquier forma adecuada.

La composición de la presente invención puede utilizarse en forma de preparaciones sólidas o líquidas o sus alternativas. Los ejemplos de preparaciones sólidas incluyen, pero no se limitan a comprimidos, cápsulas, polvos finos, gránulos y polvos que pueden ser humectables, estar secados por pulverización o liofilizados. Los ejemplos de preparaciones líquidas incluyen, pero no se limitan a disoluciones, suspensiones y emulsiones acuosas, orgánicas o acuosas-orgánicas.

Los ejemplos adecuados de formas incluyen uno o más de comprimidos, píldoras, cápsulas, óvulos, disoluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes para aplicaciones de liberación inmediata, retrasada, modificada, sostenida, pulsada o controlada. Con respecto a la aplicación de liberación controlada, es posible regular, por ejemplo, la adición del componente de fermentación de EPS de la composición para permitir, con ello, un mayor control de la humedad en la cuajada del queso y el producto de queso.

Los ejemplos de vehículos nutricionalmente aceptables para su uso en la preparación de las formas incluyen, por ejemplo, agua, disoluciones salinas, alcohol, silicona, ceras, gelatina de petróleo, aceites vegetales, polietilenglicoles, propilenglicol, liposomas, azúcares, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, tensoactivos, ácido silícico, parafina viscosa, aceite de perfume, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos petroétéreos, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

Los excipientes preferidos para las formas incluyen lactosa, sacarosa, maltosa, almidón, una celulosa, azúcar de la leche o polietilenglicoles de alto peso molecular.

Las formas también pueden incluir cápsulas de gelatina, cápsulas de fibra, comprimidos de fibra, etc., o incluso bebidas con fibra.

La siguiente muestra se ha depositado según el tratado de Budapest en la depositaria reconocida Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), el 2 de septiembre de 2003 (02-09-2003):

DSM 15889 (que es *Lactobacillus sakei* DC 570)

Por tanto, las realizaciones más preferidas de la presente invención se refieren al producto, la composición, el proceso y el método mencionados anteriormente que emplean o pueden derivarse de dicho depósito DSM 15889.

Ejemplos

La presente invención se describirá a continuación con ejemplos y remitiéndose a las figuras adjuntas:

Figuras

Figura 1. Una representación esquemática de un proceso adecuado para fabricar queso.

Figura 2. Una gráfica que representa las características de pH de 10 % de *Streptococcus thermophilus* V3 incubado a 40 °C.

Figura 3. Una gráfica que representa las características de pH de 10 % de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 incubado a 40 °C.

Figura 4. Una representación gráfica que muestra las características de pH de la acidificación del medio en presencia de 10 % de un cultivo de fermentación de EPS que contiene *Lactobacillus sakei* 570 incubado a 37 °C.

Figura 5. Una representación gráfica que muestra las características de pH de la acidificación del medio en presencia de 10 % de un cultivo de fermentación de EPS que contiene *Leuconostoc mesenteroides* 808 incubado a 37 °C.

Figura 6: Una representación esquemática que muestra una separación del suero relativa.

Figura 7. Una gráfica que representa un estudio de sinéresis con *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322.

Figura 8: Una gráfica que representa una sinéresis con un cultivo de fermentación de EPS que contiene *Lactobacillus sakei* 570.

5 Figura 9. Una gráfica que proporciona un resumen de las características de pH de los experimentos de acidificación y sinéresis empleando 10 % de un cultivo de fermentación de EPS termizado que contiene *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322.

Figura 10: Una gráfica que proporciona un resumen de las características de pH de los experimentos de acidificación y sinéresis empleando 10 % de un cultivo de fermentación de EPS termizado que contiene *Lactobacillus sakei* 570.

10 Figura 11. Una gráfica que representa un resumen de los experimentos de acidificación y los experimentos de sinéresis.

Figura 12. Diagrama de producción de un queso con bajo contenido en grasas producido con *Lb. sakei*.

Figura 13. Diagrama esquemático del procedimiento de fabricación de queso.

Figura 14. Resultados de la evaluación sensorial de quesos con bajo contenido en grasas.

15 Tabla 1: Variaciones en ensayos para el estudio del cambio de pH de una cepa formadora de EPS a diferentes temperaturas.

Tabla 2: Muestra las características de pH de *Streptococcus thermophilus* V3.

Tabla 3: Muestra las características de pH de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322.

Tabla 4: Muestra las características de pH de *Lactobacillus sakei* 570.

20 Tabla 5: Muestra las características de pH de *Leuconostoc mesenteroides* 808.

Materiales y métodos

Lista de bacterias empleadas en los experimentos:

25 - Cepa de acidificación control: *Streptococcus thermophilus* TS-H 100 (K) (SC no formadora de EPS, cepa termófila)

30 - Cepas microbianas productoras de EPS que forman parte del cultivo de fermentación de EPS: Pueden utilizarse cepas formadoras de hetero-EPS, tales como *Streptococcus thermophilus* V3 (Sc) (termófila), *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 (Lc) (mesófila) y otras cepas bacterianas de ácido láctico que forman hetero-EPS según se describe en la presente.

35 Se han empleado cepas formadoras de homo-EPS, tales como: *Lactobacillus sakei* Lb 570 (Lb) (mesófila) o *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 (Ln) (mesófila) como cepas bacterianas de ácido láctico que forman homo-EPS típicas, aunque también pueden emplearse otras cepas formadoras de homo-EPS según se describe en la presente.

Ejemplo 1

40 Se proporciona una representación esquemática de un ejemplo de un proceso que puede seguirse para producir un producto de queso blando (véase la figura 1). La acidificación del medio adecuado para formar queso puede ser acidificado por una bacteria de ácido láctico de acidificación iniciadora, que son conocidas por los expertos en la técnica.

Ejemplo 2

45 1. Metodología para detectar el cambio del pH en leche

50 La metodología descrita se aplicó a todas las cepas estudiadas según la figura 2, la figura 3, la figura 4 y la figura 5. El objetivo consistió en detectar el cambio en la acidificación en leche empleada para la fabricación de queso a unas temperaturas de 34 °C y/o 37 °C y/o 40 °C.

Etapa 1: Producción de un cultivo de fermentación de EPS

55 Todos los medios de fermentación se inocularon con 1 % del cultivo activado, concretamente, 1 ml de cultivo/100 ml de medio. Las cepas Sc y Lc se cultivaron en VIS-START 10 suministrado por Danisco Germany, Niebüll. Las cepas Lb y Ln se cultivaron en VIS-START 10 más sacarosa al 10 % (en p/v). La concentración se obtuvo añadiendo 20 ml de disolución de sacarosa (al 50 %) a 80 ml de VIS-START 10 concentrado. Las cepas mesófilas Lc, Lb y Ln se incubaron a 30 °C y la cepa termófila Sc se incubó a 39 °C. El tiempo de fermentación fue de 4 h para Sc y de 48 h para Lb y Ln. La cepa Sc se enfrió en agua helada después de la fermentación y se conservó en la nevera hasta su uso al día siguiente para detener el crecimiento del cultivo. El tiempo de fermentación puede ser de 60 aproximadamente 9 horas a 16h ± 1h.

65 Además, o como alternativa, parte de los cultivos de fermentación de EPS se calentaron hasta 65 °C durante 20 segundos después de la fermentación (mientras se agita en un baño de agua a 80 °C). Esta etapa se denomina termizar o calentar.

Además, o como alternativa, parte del medio no tratado y parte del medio calentado (termizado) se neutralizó hasta pH 6,7 empleando una disolución 2 M de Ca(OH)₂.

5 Por tanto, el medio que contiene EPS fermentado está disponible en forma no tratada, neutralizada, calentada (termizada) y también neutralizada y calentada.

En consecuencia, la tabla 1 muestra las variaciones en la temperatura y la cepa que estuvieron disponibles para los ensayos.

10

Tabla 1

Ensayo	+ cepa acidificante de referencia	Tasa de EPS [%]	calentado	neutralizado
1/2/3		10/7,5/5		
4/5/6		10/7,5/5		x
7/8/9	x	10/7,5/5		
10/11/12	x	10/7,5/5		x
13/14/15	x	10/7,5/5	x	
16/17/18	x	10/7,5/5	x	x
19/20/21		10/7,5/5	x	
22/23/24		10/7,5/5	x	x
25	x	-		

Etapa 2: Fermentación de la leche

15 Tal y como es normal en la fabricación de queso, se añadió CaCl₂ a la concentración de 10 g de CaCl₂/100 l a la leche. La leche se calentó hasta la temperatura de ensayo y se pesó en: 72 g, 74 g respectivamente 76 g.

Además, el cultivo de fermentación de EPS se pesó en 8 g (10 %), 6 g (7,5 %), respectivamente 4 g, (5 %), y se añadió a la leche, de modo que el total siempre era de 80 g.

20 Como referencia, se emplearon 80 g de leche que justo había sido inoculada con una cepa de acidificación de referencia (SC sin formación de EPS). Las mezclas se agitaron en un baño de agua precalentada con un agitador integrado a aproximadamente 45 rev./min. El pH se midió en el momento t = 0 y la medición se repitió cada 20 a 30 min. En cuanto la mezcla alcanzó pH 6,2 (el pH en el rellenado en el proceso de fabricación de queso simulado), la respectiva muestra se retiró del baño de agua y se sometió a otra fermentación a temperatura ambiente. A pH 5,1 ± 0,5, las mezclas se trasladaron a una cámara de enfriamiento a 12 °C (simulación del proceso de fabricación de queso). A la mañana siguiente, los valores de pH se volvieron a medir.

25 Se ensayó el efecto de la cepa termófila *Streptococcus thermophilus* V3 sobre la acidificación del medio en presencia o en ausencia del cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Tal como se muestra en la figura 2, 10 % del *Streptococcus thermophilus* V3 no tratado, 10 % del *Streptococcus thermophilus* V3 termizado, 10 % del *Streptococcus thermophilus* V3 neutralizado, así como 10 % del *Streptococcus thermophilus* V3 termizado y neutralizado fueron capaces de acidificar el medio hasta un pH de entre 5,3 y 4,6, aunque no con tanta rapidez como el cultivo de acidificación iniciador que comprende solo la cepa de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Los cultivos se incubaron a 40 °C durante hasta 30 horas. La acidez del medio disminuyó hasta 30 35 aproximadamente pH 5,1 en aproximadamente 2,5 a 3,5 horas después de la inoculación (véase la figura 2).

Los datos presentados en la tabla 2 demuestran que *Streptococcus thermophilus* V3 es incapaz de detener el bloqueo de la inhibición de la acidificación por el cultivo iniciador y retrasa la acidificación en aproximadamente 1,5 horas. Así, esto indica que la cepa de *Streptococcus thermophilus* V3 puede ser una bacteria potencialmente 40 adecuada para su uso en el proceso de fabricación de queso descrito en la presente.

Tabla 2

Medio que contiene EPS	Reacción
no tratado	acidificación muy rápida
neutralizado	retraso en la acidificación de aproximadamente 20-30 min
termizado	retraso en la acidificación de aproximadamente 1 h
neutralizado + termizado	retraso en la acidificación de aproximadamente 1 ½ h

45 Se ensayó el efecto de la cepa mesófila de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 sobre la acidificación del medio en presencia o en ausencia del cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Tal como se muestra en la figura 3, 10 % del *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 no tratado, 10 % del *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 termizado, 10 % del *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 neutralizado, así como 10 % del *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 termizado y neutralizado fueron capaces de acidificar el medio hasta un pH de entre 5,3 y 4,6, aunque no con tanta rapidez como el cultivo de acidificación iniciador que comprende solo la cepa 50 de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Los cultivos se incubaron a 40 °C durante hasta 30 horas. La acidez del

medio disminuyó hasta aproximadamente pH 5,1 en aproximadamente 4,5 a 6 horas después de la inoculación (véase la figura 3).

5 Los datos presentados en la tabla 3 demuestran que *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 es capaz de detener la inhibición de la acidificación por el cultivo iniciador. Así, esto indica que la cepa de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Lc 322 puede ser una bacteria adecuada para su uso en el proceso de fabricación de queso modificado descrito en la presente.

Tabla 3

Medio que contiene EPS	Reacción
no tratado/+K	acidificación menor que K en pH 4,31-4,74
neutralizado/+K	retraso en la acidificación
termizado + K	no acidificación, similar a K
neutralizado y termizado + K	no acidificación, como K

10 Se ensayó el efecto de la cepa mesófila *Lactobacillus sakei* Lb 570 sobre la acidificación del medio en presencia o en ausencia del cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Tal como se muestra en la figura 4, 10 % de las bacterias de ácido láctico viables de *Lactobacillus sakei* Lb 570 termizadas, así como 10 % de las bacterias de ácido láctico viables de *Lactobacillus sakei* Lb 570 termizadas y neutralizadas fueron capaces de acidificar el medio hasta un pH de entre 5,5 y 4,6 con tanta rapidez como el cultivo de acidificación iniciador que comprende solo la cepa de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Los cultivos se incubaron a 37 °C durante hasta 24 horas. La acidez del medio disminuyó hasta aproximadamente pH 5,0 en aproximadamente 4,5 horas después de la inoculación (véase la figura 4).

20 Utilizando las mismas condiciones de incubación, la cepa de *Lactobacillus sakei* 570 no tratada se incubó con o sin el cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. La cepa de *Lactobacillus sakei* 570 no tratada retrasa la acidificación del medio (véase la figura 4).

25 Los datos presentados en la tabla 4 demuestran que *Lactobacillus sakei* 570 neutralizado y termizado es capaz de abolir el bloqueo de la acidificación y también contribuye a una acidificación más rápida del medio. Así, esto indica que la cepa de *Lactobacillus sakei* 570 es una bacteria adecuada para su uso en la fabricación de queso. Por tanto, empleando esta cepa es posible reducir el tiempo de acidificación y, así, aumentar potencialmente la producción durante la fabricación de queso.

Tabla 4

Medio que contiene EPS	Reacción
no tratado	mínimo: pH 0,1-0,5 bloquea K → acidificación más lenta
neutralizado + K	pH 0,1-0,7 abole el bloqueo de K, acidificación más rápida que K, acidificación a 13 °C hasta pH 4,6-4,7
termizado + K	34/37 °C: pH 0,3-0,4, 40 °C: - abole un poco el bloqueo de K
neutralizado + termizado + K	34 °C/37 °C: pH 0,4-0,6, 40 °C: - se abole el bloqueo, acidificación más rápida

35 Se ensayó el efecto de la cepa *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 sobre la acidificación del medio en presencia o en ausencia del cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Tal como se muestra en la figura 5, 10 % de las bacterias de ácido láctico viables de *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 termizadas, así como 10 % de las bacterias de ácido láctico viables de *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 termizadas y neutralizadas fueron capaces de acidificar el medio hasta un pH de aproximadamente 5,0 con tanta rapidez como el cultivo de acidificación iniciador que comprende solo la cepa de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. Los cultivos se incubaron a 37 °C durante hasta 24 horas. La acidez del medio disminuyó hasta aproximadamente pH 5,0 en aproximadamente 5,5 horas después de la inoculación (véase la figura 5).

40 Utilizando las mismas condiciones de incubación, la cepa de *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 mesófila no tratada se incubó con o sin el cultivo de acidificación iniciador de *Streptococcus thermophilus* TS-H 100. La cepa de *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 no tratada retrasa la acidificación del medio (véase la figura 5).

45 Los datos presentados en la tabla 5 demuestran que *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 neutralizado y termizado es capaz de abolir la inhibición de la acidificación y también contribuye a una acidificación más rápida del medio. Así, esto indica que la cepa de *Leuconostoc mesenteroides* Ln 808 puede ser una bacteria adecuada para su uso en el proceso de fabricación de queso según se describe en la presente. Por tanto, empleando esta cepa es posible reducir el tiempo de acidificación y, así, aumentar potencialmente la producción durante la fabricación de queso.

50

Tabla 5

Medio que contiene EPS	Reacción
no tratado + K	acidificación: 34 °C, pH 0,4; bloquea K, acidificación más lenta incompleta
neutralizado + K	acidificación: 34 °C, pH 0,5-0,7; no bloqueo de K, característica de acidificación más rápida
termizado + K	acidificación: 34 °C, 0,1- 0,2; más lenta que la cepa no tratada, reversión parcial del bloqueo de K
neutralizado + termizado + K	igual que termizado, más rápido que K

Ejemplo 2

5

2. Metodología para detectar la sinéresis (véase la figura 6)

Esta metodología se aplicó a los experimentos, cuyos resultados se presentan en la figura 7 y la figura 8.

10 El objetivo consistió en estudiar el cambio en la sinéresis en leche empleada para la fabricación de queso a unas temperaturas de 34 °C y/o 37 °C. Los ensayos de sinéresis se realizaron con las cepas Lb y Lc a 34 °C y 37 °C. C_{EPS} fue de 5 % y 10 %, y el cultivo se añadió sin haberse sometido a un tratamiento preliminar o después de calentar.

15 Para los estudios, se aplicó el sistema de modelo dinámico según Huber *et al.*, (2001) (Huber, P., Fertsch, B., Schreiber, R. y Hinrichs, J., 2001, Dynamic model system to study the kinetics of thermally-induced syneresis of cheese curd grains, Milk Science International, 56(10):459-552).

Sin embargo, para simular la producción de queso blando, el anterior método se modificó ligeramente como sigue:

- 20
- El suero drenado se colocó en tubos de ensayo que contenían cada uno 25 ml de suero dulce reconstituido. Los tubos se colocaron en un agitador de incubación precalentado (Modell C 25, New Brunswick Scientific Co., Inc., Edison, Nueva Jersey, EE. UU.).
 - La leche (para la fabricación de queso) se prefermentó en una escala de 100 ml y se coaguló. Para este fin, se introdujeron 100 µl de una disolución de CaCl₂ en cada vaso, y se pesó y añadió el cultivo de fermentación que contiene EPS preparado. La leche se precalentó hasta la temperatura deseada y también se pesó y se añadió. Después de la adición de 100 µl del cultivo de acidificación de referencia/100 g de leche, se agitó durante 1 min. Después, se realizó una premaduración durante 60 min en un baño de agua a la respectiva temperatura. Después de la premaduración se añadió el cuajo (1:20, en p/v) a una concentración de 20 ml/100 l de leche (que se corresponde con 400 µl de cuajo diluido/100 g de leche). Después de la adición del cuajo se agita durante 1 min y se vuelve a calentar en el baño de agua hasta el momento del cortado.
 - El gel coagulado se cortó en cubos de 22 mm (correspondientes al queso blando) con una herramienta especial. Cada cubo se colocó en los vasos con suero dulce precalentado y se agitó a 200 rev./min a la respectiva temperatura. Se calculó el peso neto m₀ del cubo. Los tiempos de agitación fueron de 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 y 180 min. Después del respectivo tiempo de agitación, el tubo de ensayo se retiró del agitador y el suero se vertió a través de un tamiz extrafino. Se midió el peso del cubo agitado m_t después de un tiempo de agitación de t. Se calculó la liberación de suero relativa ("relative whey release", RWR) en porcentaje por medio de la siguiente fórmula:

$$RWR = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \times 100 \quad (0,1)$$

40 En la figura 6 se muestra una representación esquemática de la metodología empleada para determinar la separación del suero relativa.

Ejemplo 3

45

3. Coordinación del cambio de pH y los experimentos de sinéresis

El objetivo fue representar los cambios experimentales en el pH y la sinéresis a lo largo del tiempo a medida que son ensayados simultáneamente mientras se fabrica queso, para deducir una tecnología apropiada.

50

Las líneas A y B en la figura 9 se refieren a un queso a una temperatura de 37 °C. La línea de pH se refiere al cambio en el pH determinado por medio del método descrito en el ejemplo 1 y representado en la figura 3 y la figura 4. La curva de la sinéresis se determinó según el método descrito en el ejemplo 2 y representado en las figuras 7 y 8.

El espacio delimitado entre las líneas A y B en la figura 9 representa un desplazamiento en el tiempo que puede explicarse trasladando los datos de la figura 10.

5 Así, en primer lugar, el tiempo de premaduración es de 60 min. Además se produce la formación de gel hasta el cortado. Se calculó el tiempo de cortado a partir del punto de gelificación medido (medición oscilatoria). Cálculo del tiempo de cortado = tiempo hasta el punto de gelificación x 4.

10 Como ejemplo ilustrativo: después de aproximadamente 10 a 12 min después de la adición del cuajo, comienza la formación de gel = punto de gelificación. Este tiempo multiplicado por 4 es igual a 40 a 48 min. En total, esto significa 60 min de premaduración más el tiempo hasta el cortado 40 min = 100 min. Los 100 min se corresponden con el desplazamiento en la curva de RWR en la figura 9 delimitado entre las línea A y B.

Ejemplo 4

15 4. Presentación de los resultados según la figura 11

Se consideran la RWR y los valores de pH mostrados en la figura 9 en un momento concreto. Esto significa que se obtienen los valores para los datos (t/pH/RWR), por ejemplo, para la figura 9, 37 °C: t = 100 min, pH aproximadamente 6,2, RWR aproximadamente 18 %. Se presentan los correspondientes valores de RWR para un momento concreto dependiendo del pH.

20 Se obtiene la presentación que aparece en la figura 11. Muestra la representación del pH y de la sinéresis de los granos de cuajada durante el proceso de fabricación de queso en los experimentos modelo para el proceso modificado. Dependiendo del tiempo, tal como se muestra en la figura 9 o la figura 10, pueden leerse los valores de las coordenadas para RWR y pH.

25 Para la producción de queso blando deben respetarse las siguientes instrucciones: cuando se introduce la cuajada, la RWR debe ser de aproximadamente 50 % y el pH debe ser de 6,1 a 6,3.

30 Ejemplo 5

Queso con bajo contenido en grasas con exopolisacáridos de *Lb. sakei*.

35 Se produjo un queso con bajo contenido en grasas con 6 % de queso a una escala piloto de 180 l con un cultivo de *Lactobacillus sakei*. El prefermento de *Lactobacillus sakei* se preparó según el siguiente diagrama de flujo (figura 12). El objetivo del experimento es desarrollar un queso graso al 6 % que tenga una textura/propiedades sensoriales similares al queso 30+ (17 % de grasa) con respecto a las propiedades de gomosidad y solubilidad.

40 Producción del queso: El queso con bajo contenido en grasas se produjo según el diagrama de flujo de la figura 13. El iniciador mesófilo es un cultivo de Aria Foods producido por Danisco A/S.

45 El grupo del proyecto (9 personas), un panel no entrenado, probó los quesos a ciegas (con un código de letras). Los quesos tenían una edad de cuatro semanas y se conservaron durante 24 horas a 13 °C antes de servir. El orden de servicio se aleatorizó y todos los quesos se evaluaron empleando 6 descriptores:

Consistencia - *dureza y elasticidad*
Sensación en la boca - *dureza, pegajoso, soluble y gomoso*

50 El director del panel (presidente) marcó los quesos en una escala de línea si todo el grupo del proyecto estaba de acuerdo con la intensidad de un descriptor percibido. La escala de línea tiene un criterio de valoración desde "poco" a "mucho". Se evaluó un queso cada vez con respecto a los 6 descriptores.

Los códigos de las muestras fueron:

- 55
- A: Queso comercial "Danbo" 30+ (Hjørring Dairy, ArlaFoods, Dinamarca)
 - D: Queso graso al 6 % con 2,5 % de prefermento de *Lb. sakei*
 - H: Queso graso al 6 % con 1 % de *Lb. sakei*
 - K: Queso graso al 6 % sin adiciones

60 La figura 14 muestra los resultados de la evaluación sensorial de quesos con bajo contenido en grasas.

65 Los quesos se evaluaron mediante un análisis sensorial después de una conservación durante 5 semanas. El perfil sensorial demuestra que el queso graso al 6 % con 2,5 % de prefermento de *Lb. sakei* se parece al queso Danbo 30+ más de lo que se parece al queso graso al 6 % sin adiciones. Por contraste, el queso con solo 1 % de prefermento de *Lb. sakei* se parece al queso control graso al 6 % en el perfil sensorial.

5 En especial, la solubilidad del queso graso al 6 % mejoró significativamente en el que con 2,5 % de prefermento de *Lb. sakei* añadido, comparado con el queso graso al 6 % sin tratar. Por consiguiente, el queso con 2,5 % de prefermento de *Lb. sakei* se percibió como mucho más soluble (se desmigaba menos) en la boca, comparado con el queso graso al 6 % sin tratar. Además, la adición de 2,5 % del prefermento de *Lb. sakei* reduce significativamente la gomosidad del queso graso al 6 %. La gomosidad del queso graso al 6 % con 2,5 % de prefermento de *Lb. sakei* se redujo hasta un nivel comparable al del queso Danbo 30+ comercial.

10 Según los anteriores resultados, es evidente que la adición del prefermento de *Lb. sakei* mejora considerablemente la textura del queso con bajo contenido en grasas, lo cual produce un queso menos gomoso y más soluble. Cada una de las solicitudes y patentes mencionadas en este documento y cada documento citado o referido en cada una de las anteriores solicitudes y patentes, incluyendo durante el seguimiento de cada una de las solicitudes y patentes ("documentos citados en la solicitud") y cualquier conjunto de instrucciones o catálogos de los fabricantes de cualquiera de los productos citados o mencionados en cada una de las solicitudes y patentes y en cualquiera de los documentos citados en la solicitud se incorporan en la presente como referencia. Además, todos los documentos citados en este texto y todos los documentos citados o referidos en documentos citados en este texto, y cualquier conjunto de instrucciones o catálogos de los fabricantes de cualquiera de los productos citados o mencionados en este texto se incorporan en la presente como referencia.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición adecuada para formar queso, comprendiendo dicha composición un cultivo de acidificación iniciador y un cultivo de fermentación de exopolisacáridos (EPS), en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* 332, *Lactobacillus Sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, y *Leuconostoc mesenteroides* 808, en la que dicho microorganismo es capaz de producir una enzima, y en la que dicha enzima es capaz de producir un EPS.
- 10 2. La composición según la reivindicación 1, en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Streptococcus thermophilus* V3 y *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* 332, y el EPS es un hetero-EPS.
- 15 3. La composición según la reivindicación 1, en la que dicho cultivo de fermentación de EPS contiene un microorganismo viable seleccionado del grupo que consiste en *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH y *Leuconostoc mesenteroides* 808, y el EPS es un homo-EPS.
- 20 4. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el cultivo de acidificación iniciador comprende un microorganismo que es capaz de fermentar el ácido láctico.
- 25 5. La composición según la reivindicación 4, en la que dicho cultivo de acidificación iniciador es un cultivo de una bacteria de ácido láctico.
- 30 6. Uso de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para preparar un producto de queso, en el que el microorganismo viable de dicha composición ha producido una enzima, y en el que dicha enzima ha producido un EPS.
- 35 7. Uso según la reivindicación 6, en el que dicha producción de EPS se produce por separado de la acidificación por dicho cultivo de acidificación iniciador.
- 40 8. Uso según la reivindicación 7, en el que el EPS se produce *in situ*.
- 45 9. Uso según la reivindicación 9, en el que dicho EPS se produce en presencia de un sustrato enzimático adecuado seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, fructosa, glucosa, maltosa, lactosa, estaquiosa, rafinosa y verbascosa.
- 50 10. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que el producto de queso es un producto de queso blando.
- 55 11. Uso según la reivindicación 10, en el que dicho EPS es capaz de modular el nivel de humedad de dicho producto.
- 60 12. Uso según la reivindicación 10, en el que la humedad diana puede lograrse optimizando la liberación del suero durante el procesamiento de la cuajada.
13. Uso según la reivindicación 12, en el que dicho EPS aumenta la estabilidad y/o la elasticidad de dicha cuajada.
14. Uso según la reivindicación 13, en el que la cuajada muestra mayor resiliencia a las manipulaciones físicas.
15. Uso según la reivindicación 14, en el que dicha cuajada puede ser manipulada con un equipo de manipulación de cuajada convencional.
16. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 15, en el que dicho EPS es capaz de formar una cuajada de queso que contiene un nivel de humedad de aproximadamente 50 %.
17. Uso según la reivindicación 16, en el que dicha cuajada sufre menos del 5 % de pérdida de humedad durante la maduración para producir un producto de queso.
18. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 17, en el que dicho EPS es capaz de mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso.

19. Uso según la reivindicación 6, en el que dicha composición se mezcla con un medio adecuado para formar queso para formar una cuajada de queso que contiene un nivel de humedad de aproximadamente 50 % y en el que, durante la maduración del producto de queso, se pierde menos de aproximadamente 5 % de la humedad.
- 5 20. Un producto de queso que comprende la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
21. Un producto de queso según la reivindicación 20, en el que el producto de queso es un producto de queso blando.
- 10 22. Uso de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o de un producto de queso según la reivindicación 20 o 21, para mejorar el equilibrio microbiano del tracto gastrointestinal después del consumo, en el que dicho microorganismo de dicha composición o de dicho producto de queso que comprende dicha composición ha producido una enzima, y en el que dicha enzima ha producido un EPS.
- 15 23. Un proceso para la producción *in situ* de un EPS que comprende las etapas de:
- proporcionar una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5,
 - permitir el crecimiento de dicho microorganismo para producir el EPS, y
 - opcionalmente aislar dicho EPS.
- 20 24. El proceso según la reivindicación 23, en el que dicho EPS es un homo-EPS.
- 25 25. El proceso según la reivindicación 23 o la reivindicación 24, en el que el microorganismo es *Lactobacillus sakei* 570 depositado como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH.
- 30 26. Uso del EPS producido por el proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 25 o de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un producto de queso, en el que dicho EPS o composición es capaz de mejorar al menos uno de la textura, aroma, sabor, suavidad, consistencia, cuerpo, sensación en la boca, firmeza, viscosidad, fractura de gel, desuerado, sinéresis, estructura y/o propiedades organolépticas, beneficios nutricionales y/o para la salud del producto de queso; o dicho EPS o composición es capaz de modular el contenido en humedad del producto de queso; o dicho EPS o composición es capaz de modular la textura de un producto de queso.
- 35 27. Uso según la reivindicación 26, en el que dicho EPS o composición es capaz de mejorar la textura de un producto de queso con bajo contenido en grasas.
28. La cepa de *Lactobacillus sakei* 570 depositada como DSM 15889 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH.

Figura 1. Representación esquemática de un proceso adecuado para fabricar queso.

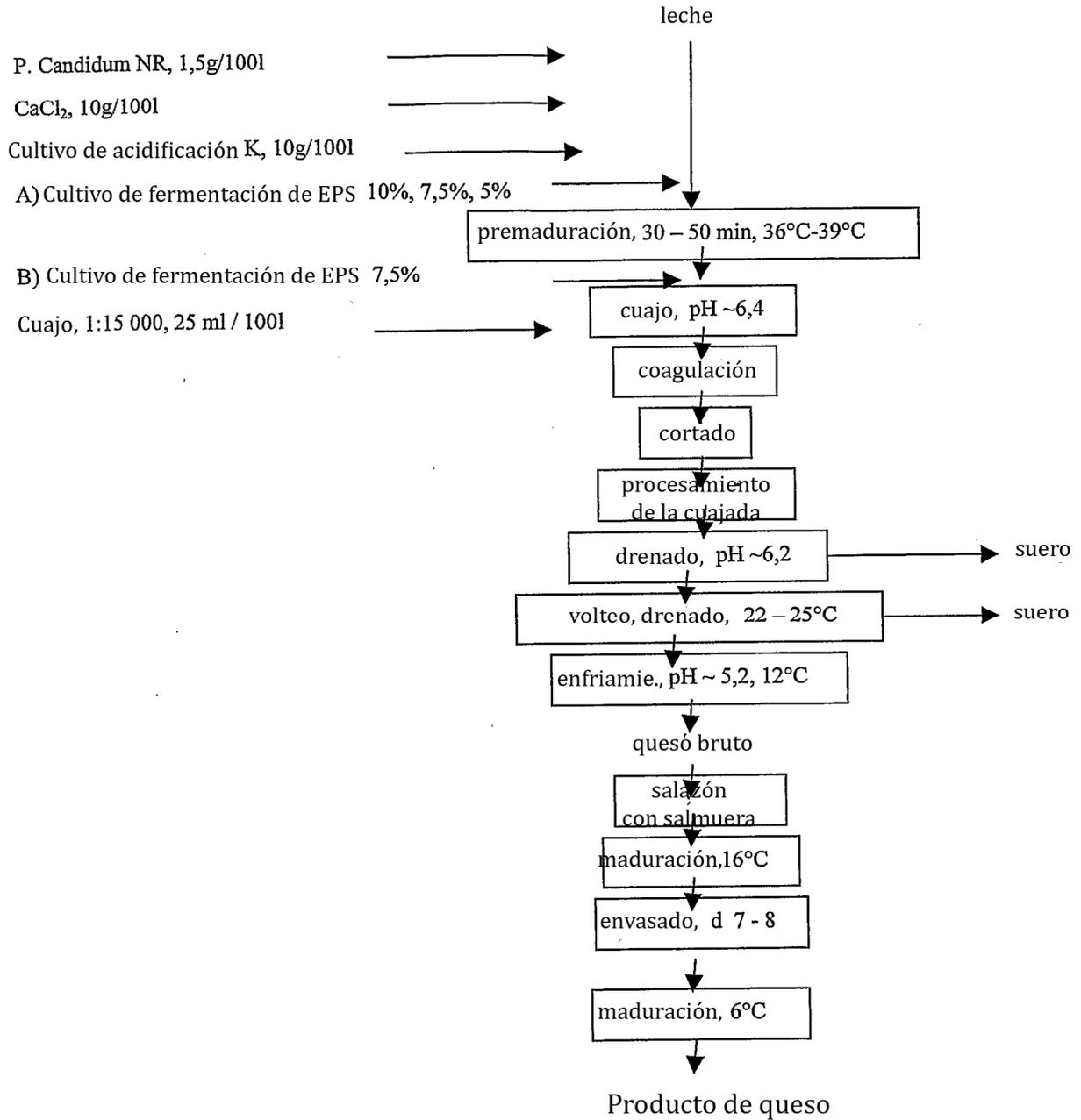
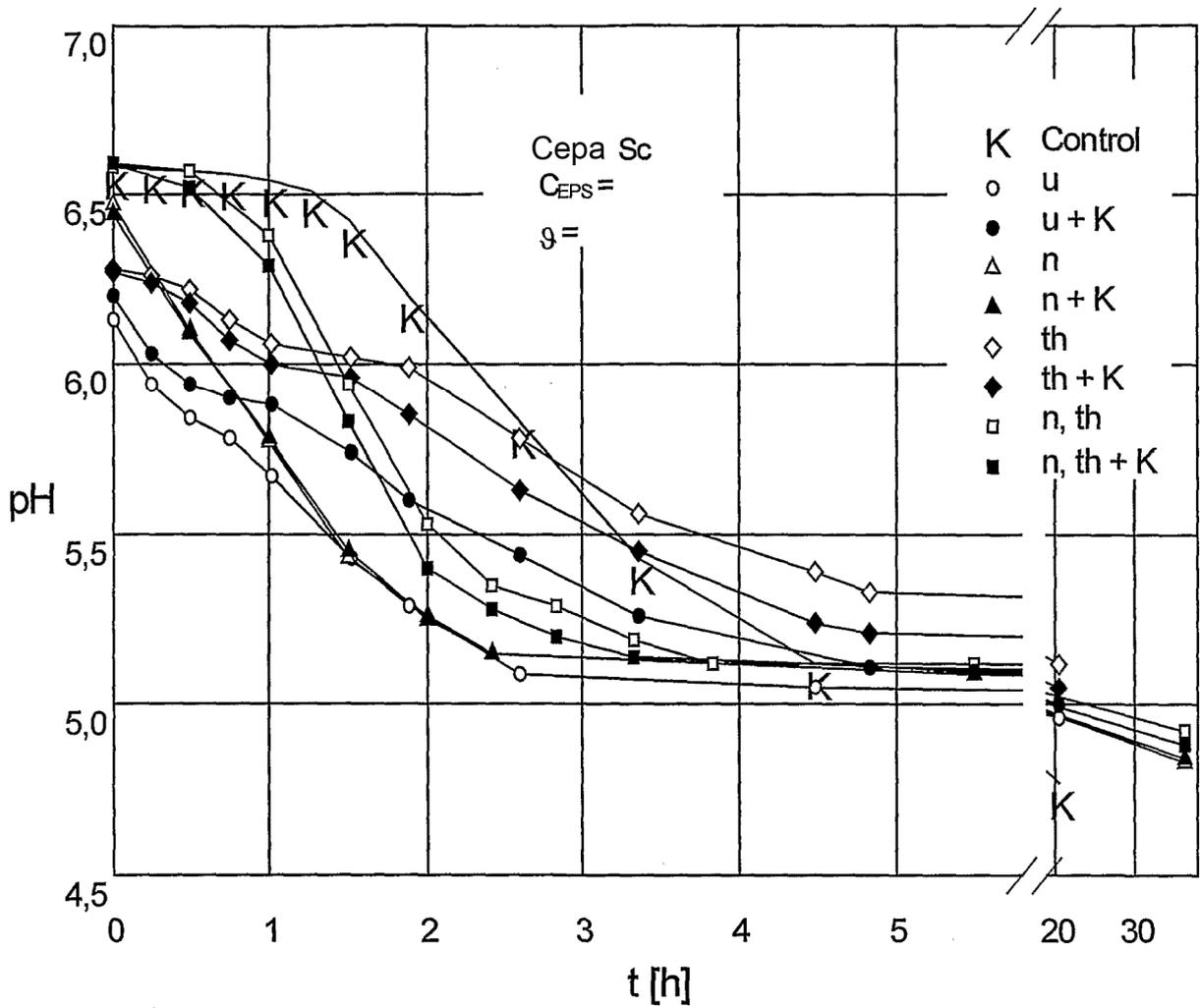


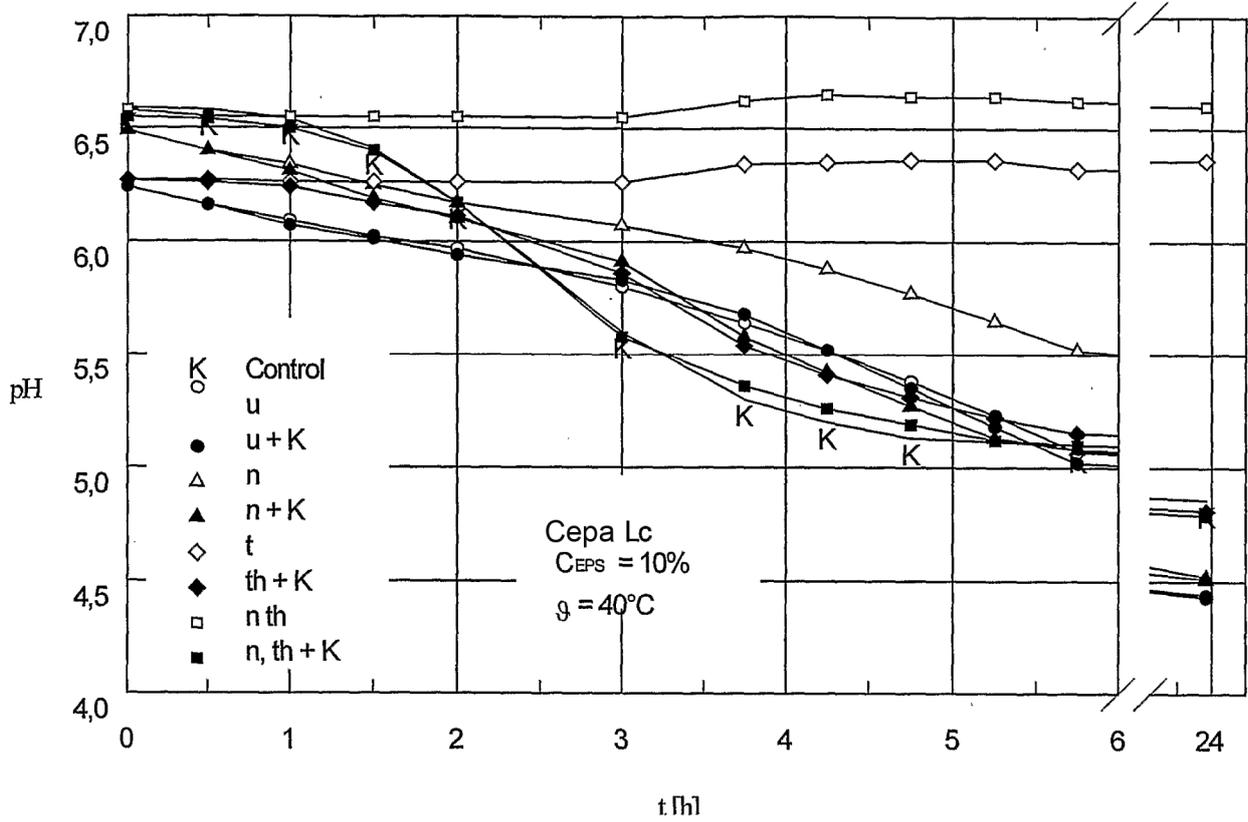
Figura 2. *Streptococcus thermophilus* V3 y pH con o sin cultivo de acidificación.



características de pH 10% Sc, 40°C

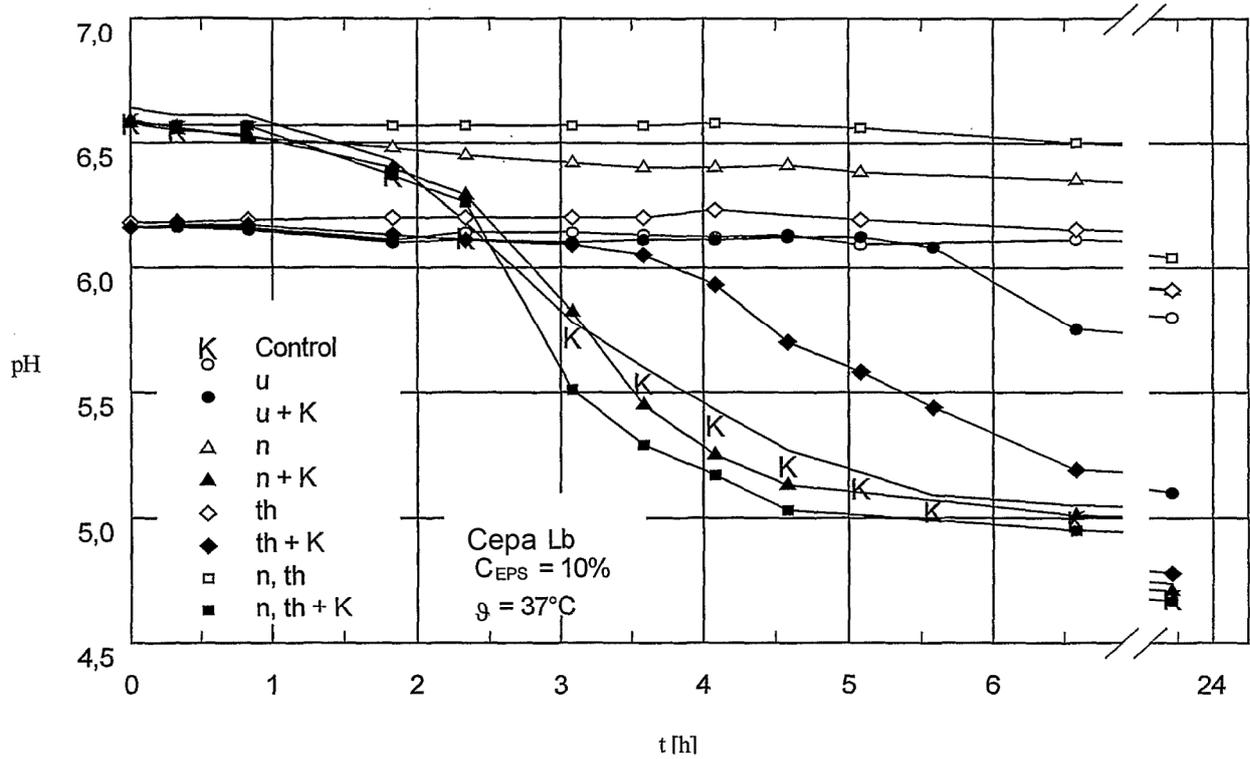
Cepa de control de la acidificación K *Sc thermophilus*, u: no tratado, n: neutralizado, th: termizado, símbolos □ sin K, símbolos ● con K

Figura 3. *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 322 y pH con o sin cultivo de acidificación.



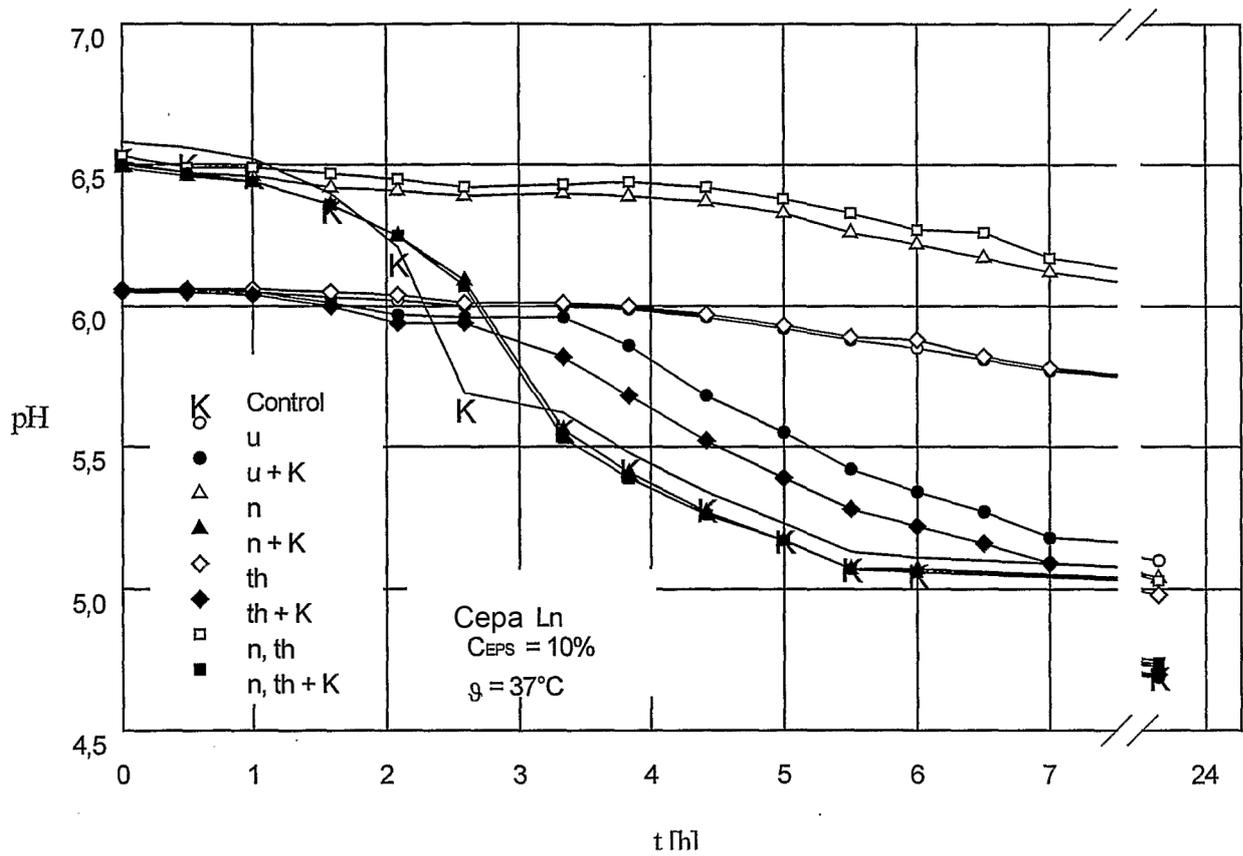
K: Cepa de control de la acidificación *Sc thermophilus*, u: no tratado, n: neutralizado, th: termizado
 símbolos □ > sin K, símbolos ● con K

Figura 4. *Lactobacillus sakei* 570 (DMS 15889) y pH con o sin cultivo de acidificación.



K: Cepa de control de la acidificación *Sc thermophilus*, u: no tratado, n: neutralizado, th: termizado, símbolos □) sin K, símbolos • con K

Figura 5. *Leuconostoc mesenteroides* 808 y pH con o sin cultivo de acidificación.



pH de acidificación 10% Ln, 37°C

K: Cepa de control de la acidificación *Sc thermophilus*, u: no tratado, n: neutralizado, th: termizado, símbolos □) sin K, símbolos ● con K

Figura 6. Representación esquemática que muestra la separación del suero relativa.

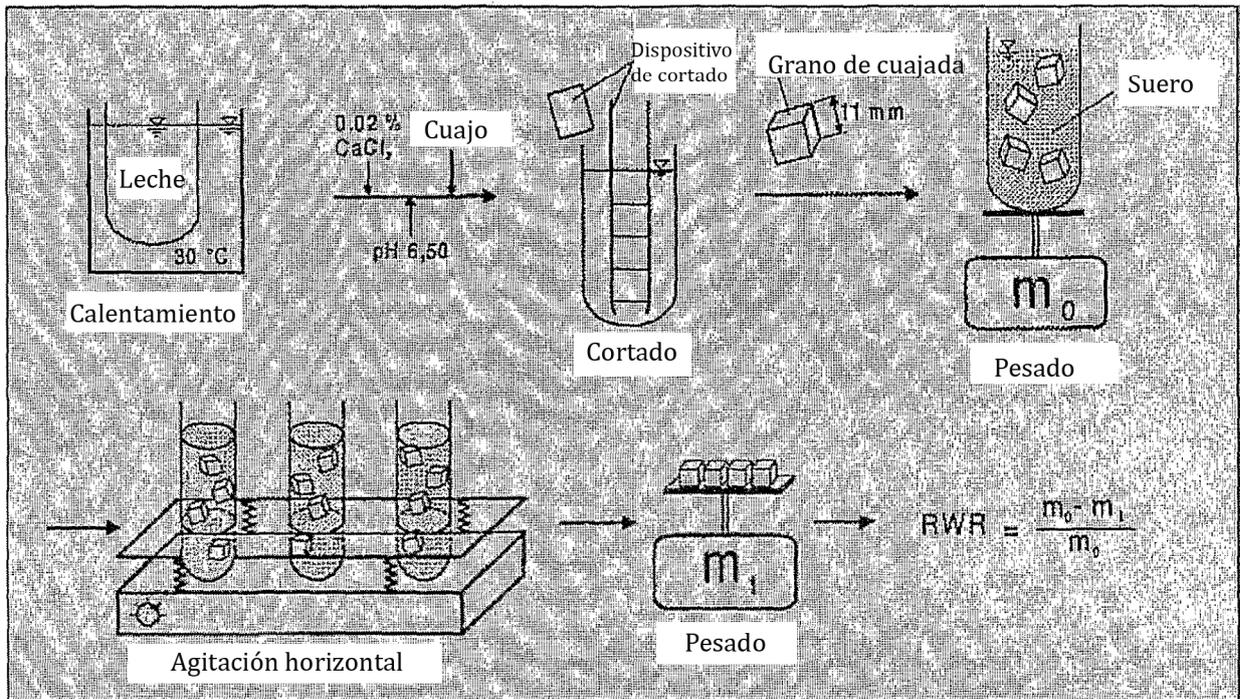
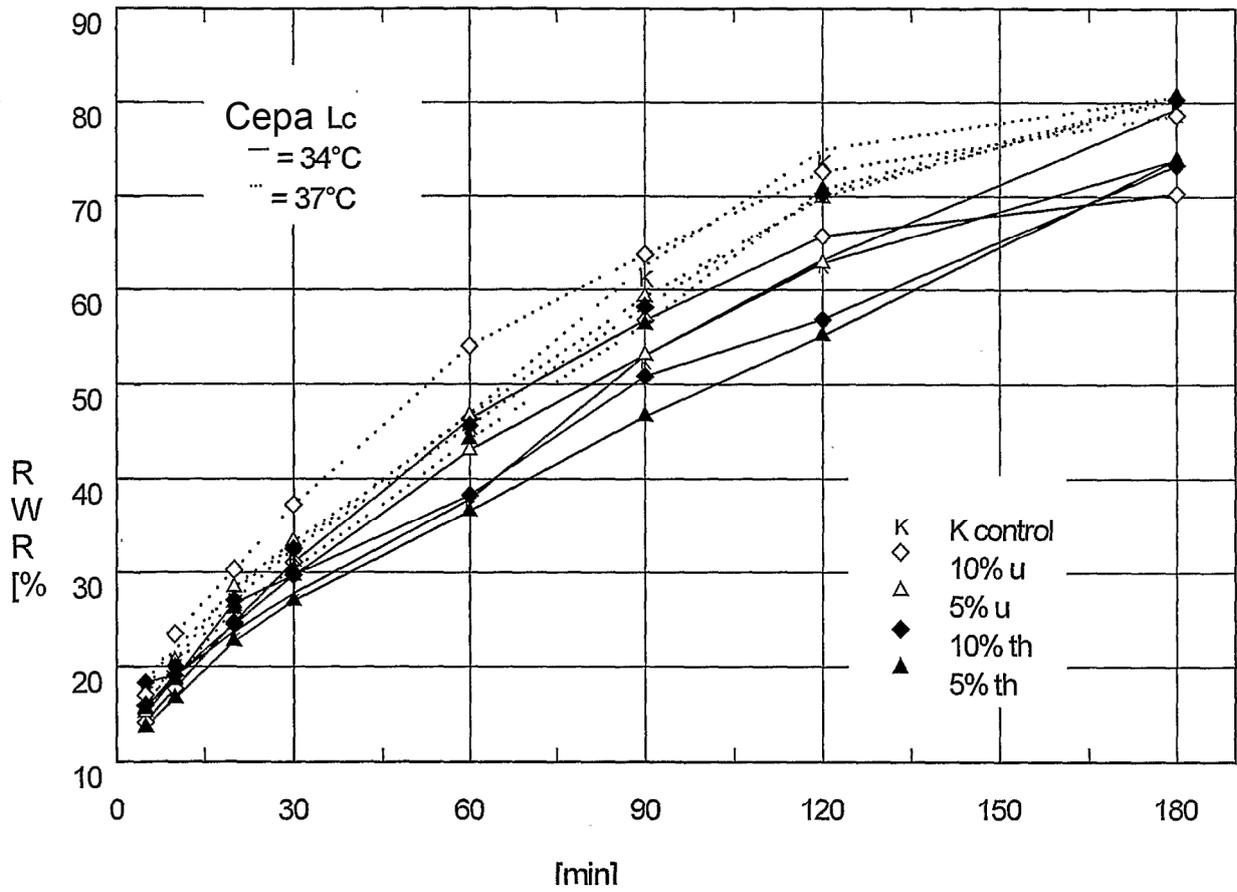
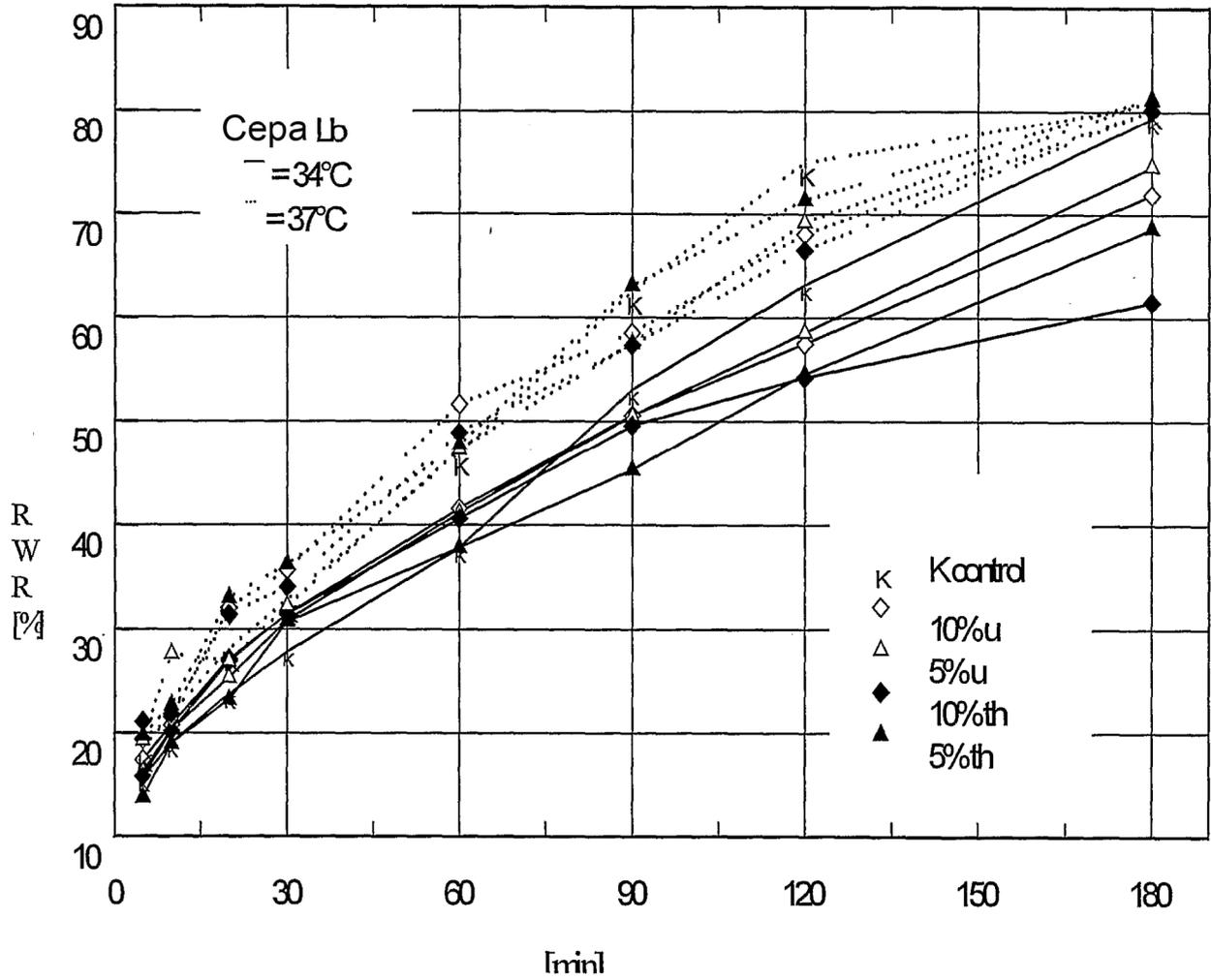


Figura 7. Sinéresis utilizando la cepa de *Lactococcus lactis* 322.



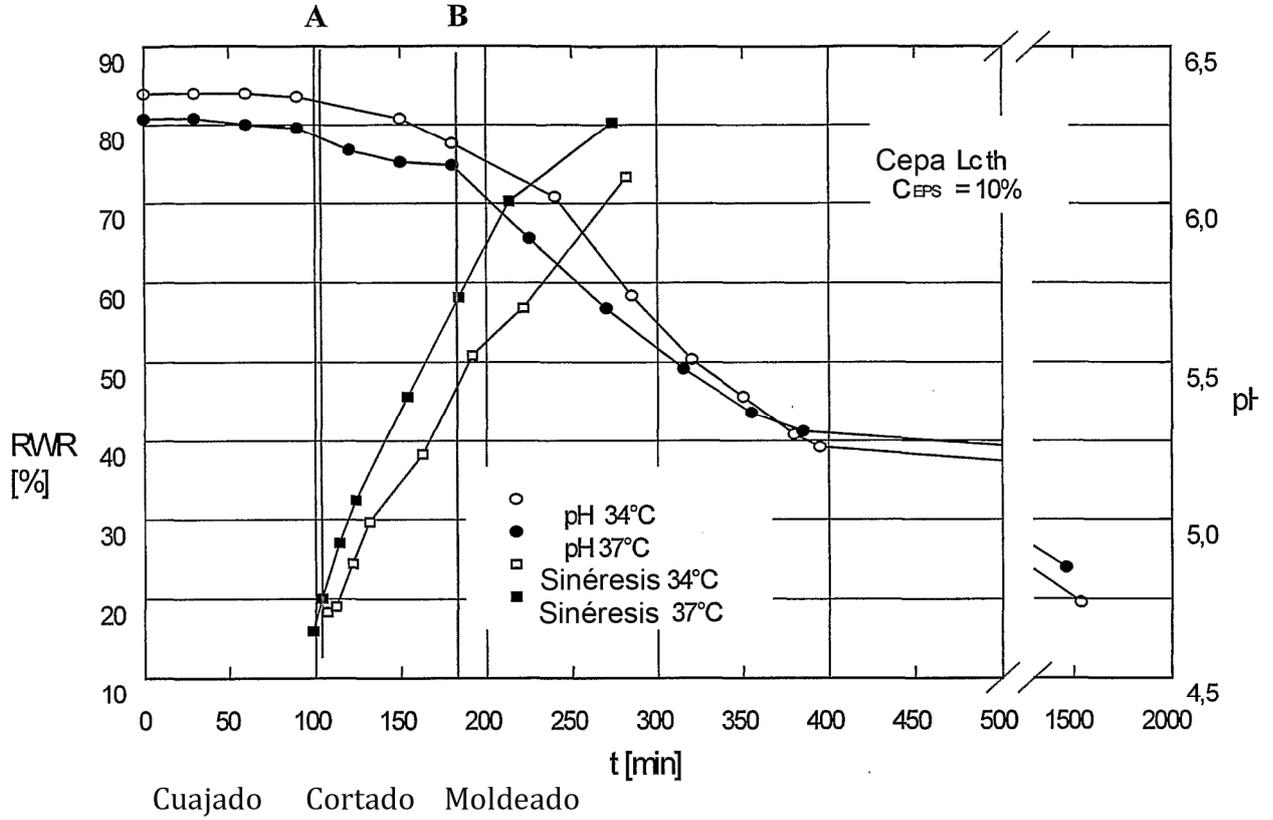
Separación del suero relativa [%] de la cepa Lc a 34°C y 37°C

Figura 8. Sinéresis utilizando la cepa de *Lactobacillus sakei* 570 (DSM 15889).



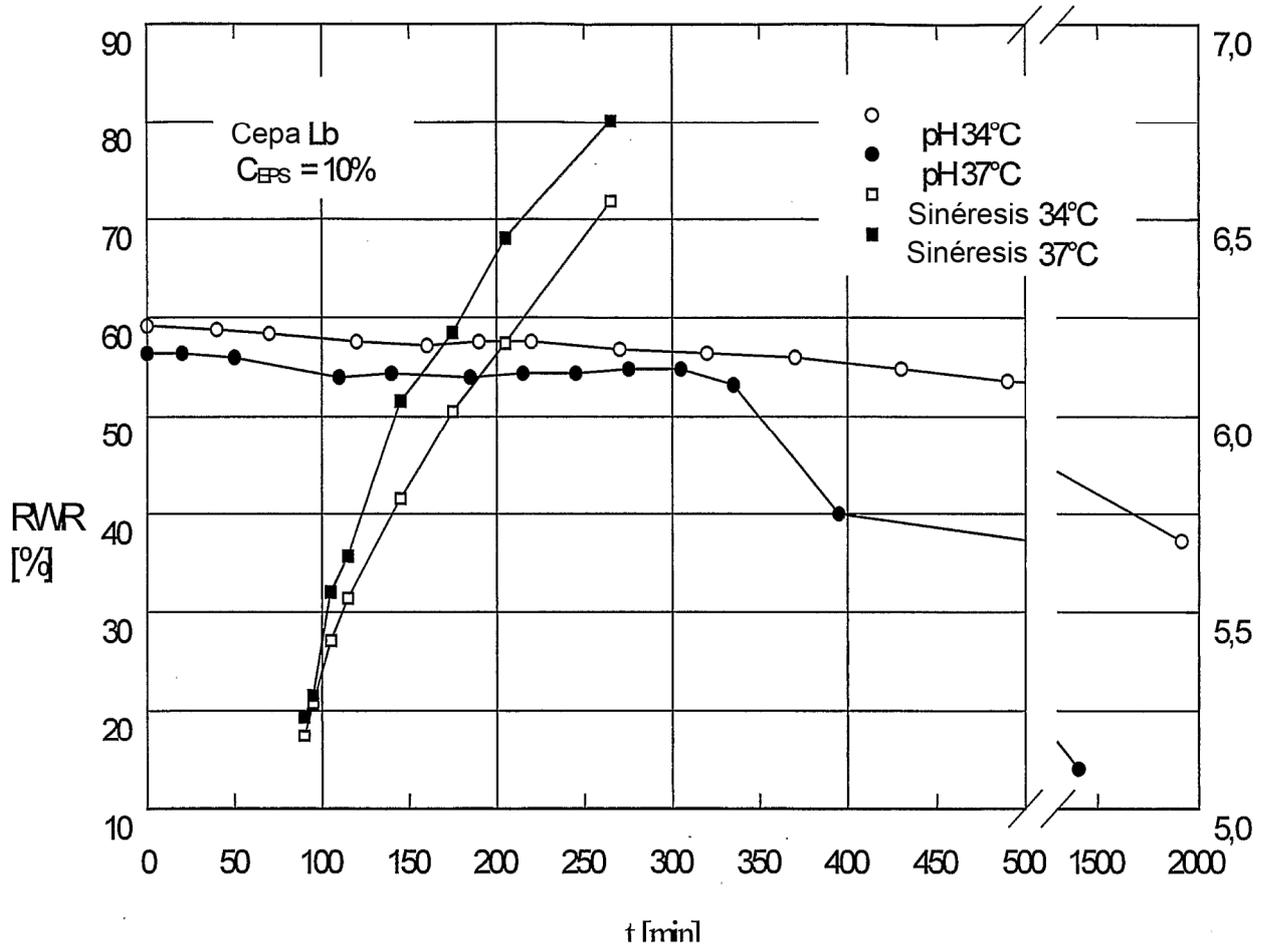
Separación del suero relativa [%] de la cepa Lb a 34°C y 37°C

Figura 9. pH y sinéresis utilizando *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* 322.



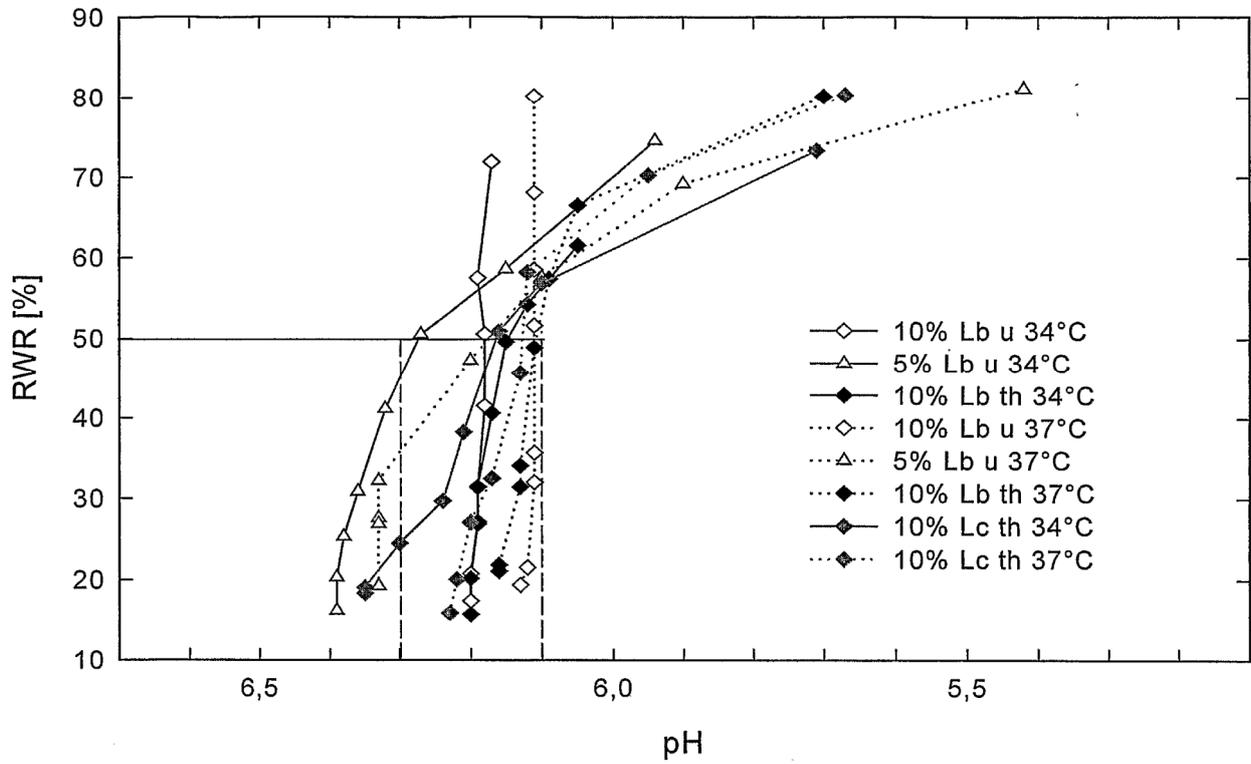
Cambio del pH y sinéresis - 10% de Lc termizado + cepa acidificante *Sc. thermophilus* K, 34°C y 37°C

Figura 10. pH y sinéresis utilizando *Lactobacillus sakei* 570 (DSM 15889).



Cambio del pH y sinéresis - 10% de Lb + cepa de acidificación de *Sc. thermophilus* K, 34°C y 37°C

Figura 11.



Resumen de la cantidad relativa de suero separado (RWR) [%] y cambio del pH

Lacobacillus sakei

Inóculo

Gránulos
de Lb. sakei Gránulos, -20°C

0,1% Inóculo 18 g de gránulos

Masa

18 l de masa
Medio VIS 10
estéril +
sacarosa 100 g/l 18l
48h
30°C (baño de agua)
(¡mezclado muy lento!)

10% Inóculo 18 l de fermento que incluye
Lb y homo-EPS

**Leche de
queso**

180l

Figura 12

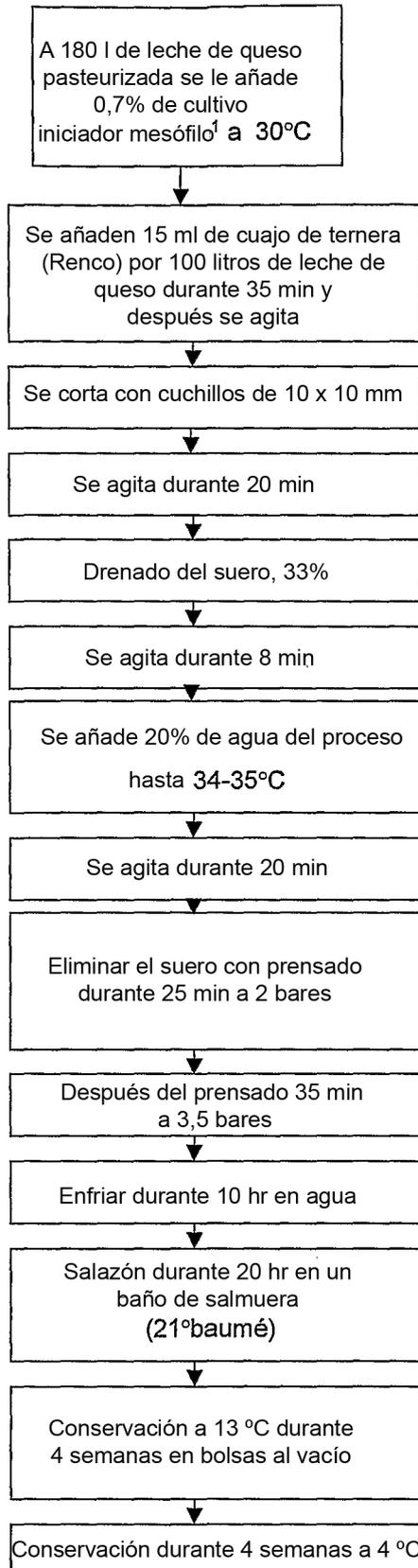


Figura 13

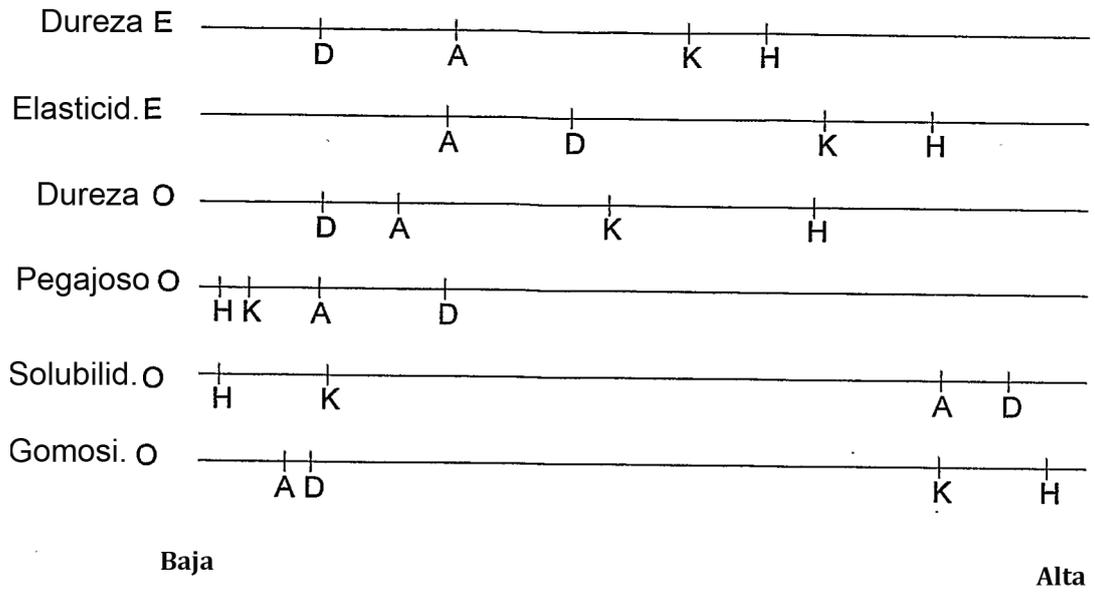


Figura 14