

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 697 802**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/12** (2006.01)

**C12N 1/20** (2006.01)

**A23C 9/123** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.06.2015 PCT/EP2015/062224**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2015 WO15185535**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2015 E 15726154 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 3151675**

54 Título: **Proceso para la inoculación directa de fermentos concentrados y dispositivo correspondiente**

30 Prioridad:

**03.06.2014 FR 1455037**

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

**28.01.2019**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BROCHERET, SYLVAIN;  
FAIVELEY, MARC y  
BAUQUIS, ANNE-CLAIRE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 697 802 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Proceso para la inoculación directa de fermentos concentrados y dispositivo correspondiente

- 5 La presente invención se refiere a un equipo y a un proceso para la inoculación continua de fermentos concentrados que no requiere ni incubación ni precultivo que tienen un posible riesgo para la salud, ni la interrupción del proceso de inoculación durante la producción.
- 10 La inoculación en la industria de procesamiento de alimentos y, en particular, en la industria láctea, es de esencial importancia para la producción de un producto. De hecho, los niveles de rendimiento industrial y cualitativo de los productos finales dependen de la naturaleza y de la eficiencia de los fermentos utilizados y de su método de adición.
- 15 La obtención de precultivos, también conocidos como cultivos iniciadores, es decir, antes de la activación del cultivo con el fin de reducir la fase de retardo, para la inoculación de leche, se conoce de los documentos WO 01/70935 y EP688864. La solicitud de patente WO 99/09838 describe un método para preparar un producto fresco en el que el cultivo iniciador puede estar en forma congelada.
- 20 En el documento FR 2873384 se describe un método y un equipo para la preparación de fermentos para la inoculación continua de un líquido a partir de fermentos congelados concentrados.
- 25 La fermentación de medio líquido a inocular con fermentos concentrados congelados significa que para las fases de inoculación y fermentación, el fabricante que los utiliza debe trabajar en modo discontinuo. De hecho, dado que la forma y el tipo de envase generalmente es en forma de bolsas o latas, los microorganismos deben añadirse necesariamente directamente al tanque de fermentación.
- 30 Otros sistemas que utilizan fermentos concentrados requieren la presencia de un recipiente complementario para la descongelación intermedia de los fermentos en el caso de fermentos congelados o para la dilución en el caso de fermentos secos, lo que aumenta el riesgo de contaminación.
- 35 Estos sistemas de reactivación y/o dilución tienen el inconveniente de tener que manipular los fermentos concentrados aguas arriba de la fase de inoculación, arriesgándose así a contaminaciones.
- El solicitante ha descubierto, de manera sorprendente, que la introducción de fermentos concentrados congelados puede llevarse a cabo mediante inoculación directa.
- 40 Como alternativa, los fermentos concentrados deshidratados por congelación pueden introducirse por inoculación directa.
- Esto permite la inoculación continua sin tener que interrumpir el proceso de fermentación para la producción del producto final. De este modo, es posible aumentar sustancialmente las velocidades de producción de los productos fermentados.
- 45 El objeto de la invención es, por lo tanto, un proceso para la inoculación continua de un producto alimentario, en particular, un producto lácteo, con fermentos concentrados.
- De acuerdo con la presente invención, el proceso para la inoculación continua de un producto alimentario, en particular un producto lácteo, con fermentos, comprende las siguientes etapas:
- 50 - los fermentos sólidos concentrados almacenados en un recipiente se transforman *in situ* en fermentos líquidos concentrados, ya sea descongelando los fermentos concentrados congelados mediante una cámara de temperatura controlada entre 0 y 15 °C, o rehidratando los fermentos concentrados liofilizados, y
- los fermentos concentrados transformados obtenidos se inyectan continuamente, desde el recipiente, en un flujo de líquido a inocular.
- 55 El objeto de la invención es también un equipo para la inoculación continua de fermentos en un líquido a inocular, en el que los fragmentos se originan a partir de fermentos concentrados congelados o deshidratados por congelación, comprendiendo dicho equipo una cámara de transformación de temperatura controlada para descongelar un recipiente que comprende fermentos concentrados congelados, una cámara de inoculación provista de medios de soporte para instalar al menos dos recipientes de fermentos listos para usar y con al menos un dispositivo de medición de peso capaz de determinar constantemente el volumen que queda en el recipiente a vaciar, comprendiendo adicionalmente
- 60 el equipo un circuito de inyección que conecta los recipientes con un circuito para la alimentación continua del líquido a inocular, comprendiendo el circuito de inyección una válvula que permite cambiar de un recipiente a otro y medios para regular el caudal de los fermentos en forma líquida, en el que la cámara de temperatura controlada es un refrigerador.
- 65 En una realización, antes de su congelación, el recipiente que contiene los fermentos concentrados congelados se

conserva a una temperatura de -20 a -70 °C.

En otra realización, antes de la rehidratación, el recipiente que contiene los fermentos concentrados deshidratados por congelación, se conserva a una temperatura de -20 °C a temperatura ambiente.

5 El recipiente puede ser rígido, deformable, blando. Preferentemente, el recipiente es blando.

10 Ventajosamente, una vez colocado en la cámara de inoculación, el recipiente que contiene los fermentos concentrados listos para usar, se pesa de forma continuada para determinar, durante el vaciado, el volumen de fermentos líquidos que queda en el recipiente pesado.

15 La inyección de los fermentos se lleva a cabo a través de la conexión a un circuito para la alimentación continua del líquido a inocular. Estos medios de conexión pueden ser tuberías de un circuito de inyección, que pueden limpiarse y esterilizarse después de cada paso del líquido a inocular en la línea, o tubos más o menos flexibles provistos de medios de conexión temporal, por ejemplo, a través de un cierre con pinza o con presión.

20 La contaminación microbiana de las superficies constituye un peligro para la salud debido a la posible contaminación de los alimentos durante su transformación. Este es, por ejemplo, el caso cuando las esporas bacterianas se producen en biopelículas, es decir, comunidades multicelulares de microorganismos que se adhieren entre sí y a una superficie. De hecho, las esporas bacterianas presentan características de resistencia destacables y contaminan las superficies del equipo y de las tuberías de conexión. Para los fabricantes industriales, en la mayoría de los casos, para garantizar una buena conservación de los alimentos transformados e impedir que se produzca la contaminación de los alimentos, la eliminación de biopelículas requiere utilizar una gran cantidad de procesos asépticos.

25 De este modo, como alternativa, los medios de conexión a un circuito para la alimentación continua de líquido a inocular, son desechables para garantizar una perfecta esterilidad y facilitar su uso. Estos medios de conexión también pueden cambiarse según los fermentos utilizados.

30 Preferentemente, después de la descongelación o después de la rehidratación, el recipiente se coloca en una cámara de inoculación a una presión superior a la atmosférica.

35 Por lo tanto, en una realización de la invención, la cámara de inoculación que contiene los fermentos concentrados se presuriza mediante un gas estéril neutro con el fin de mantener, en la medida de lo posible en dicha cámara, una presión constante que facilite así la precisión del flujo de los fermentos concentrados. Además, una sobrepresión en el recipiente limita las posibilidades de contaminación por el aire exterior. Una sobrepresión típicamente de 100 g/cm<sup>2</sup> permite realizar una medición más uniforme.

40 En una realización de la invención, en la cámara de inoculación se colocan varios recipientes en paralelo, de modo que, cuando uno de ellos se está vaciando, al menos otro recipiente que contiene los fermentos concentrados listos para su uso, está en espera.

45 Preferentemente, mediante este proceso, en un flujo de líquido a inocular, se introduce constantemente una cantidad medida de fermentos concentrados listos para usar. Este líquido inoculado se pondrá después en un fermentador, en un tanque para producir productos fermentados o en un dispositivo de fermentación, directamente en el recipiente destinado a comercializarse. En el caso de un producto lácteo, por ejemplo, la unidad de fermentación puede ser un tarro de producto lácteo.

50 Esta inoculación continua tiene el efecto de mejorar la regularidad de la calidad de los productos finales. Por lo tanto, la invención permite el uso directo, desde su recipiente, de los fermentos concentrados previamente congelados o secados por congelación directamente en la línea de líquido a inocular sin que ello conlleve a una fase intermedia arriesgada. Cualquier fase de manipulación intermedia conduce inevitablemente a riesgos de contaminación accidental que son perjudiciales para todo el proceso posterior para producir el producto fermentado. Además, la inoculación directa en la línea de líquido justo antes de la adicción del cuajo permite limitar cualquier tipo de proliferación de fagos y la creación de biopelículas en la zona de maduración.

55 Preferentemente, los medios para regular el caudal de los fermentos en forma líquida, se colocan aguas arriba del circuito para la alimentación continua del líquido a inocular. Estos medios pueden ser una bomba.

60 El tiempo de descongelación de los fermentos concentrados congelados en el recipiente es variable dependiendo de las cantidades de los productos presentes en el recipiente.

El tiempo de descongelación de los fermentos concentrados congelados en una cámara de temperatura controlada es de 5 a 30 horas, y preferentemente de 12 horas aproximadamente.

65 Con el fin de garantizar una fusión homogénea de los fermentos concentrados sin crear ningún gran choque térmico, lo que sería perjudicial para el transcurso correcto de las etapas posteriores del proceso de producción, se regula la

temperatura en la cámara de transformación.

Preferentemente, la temperatura de la atmósfera en la cámara de temperatura controlada es de 0 a 15 °C y preferentemente de 4 °C.

5 Preferentemente, los fermentos concentrados congelados se agitan durante la descongelación para homogeneizarlos y evitar que se produzcan agregados incompletamente fundidos.

10 El tiempo de rehidratación de los fermentos concentrados secados por congelación en el recipiente, es variable dependiendo de las cantidades de los productos presentes en el recipiente. Generalmente es de 30 minutos a 2 horas, y preferentemente de 1 hora aproximadamente.

15 Preferentemente, los fermentos concentrados secados por congelación se agitan durante la rehidratación con el fin de homogeneizarlos y evitar que se produzcan agregados incompletamente rehidratados.

Para este fin, en una realización del equipo, la cámara de transformación de temperatura controlada puede comprender medios para agitar el recipiente.

20 Una vez colocados en la cámara de inoculación, los fermentos líquidos listos para usar se conservan a una temperatura relativamente baja que puede ser de 2 a 12 °C, o cualquier otra temperatura compatible con el mantenimiento de las funcionalidades de los fermentos. Esto permite limitar tanto como sea posible la reanudación del metabolismo bacteriano y garantizar una calidad de inoculación constante a lo largo del tiempo.

25 En una realización del equipo, la cámara de inoculación puede comprender medios de refrigeración y medios para mantener la presión por encima de la presión atmosférica.

La cámara de inoculación del equipo puede comprender ventajosamente medios de homogeneización de al menos un recipiente durante el vaciado.

30 Por lo tanto, la homogeneización de la mezcla de fermentos concentrados durante el vaciado permite garantizar la homogeneidad de la mezcla de cultivos bacterianos que constituye los fermentos.

Preferentemente, la etapa de homogeneización comprende el mezclado.

35 Los fermentos concentrados congelados o secados por congelación se pueden envasar y conservar en envases con una mayor o menor capacidad que varía de 200 g a varios kilos. La transferencia debe llevarse a cabo bajo estrictas condiciones de higiene para evitar cualquier contaminación perjudicial en todo el proceso de fermentación posterior.

40 Los fermentos concentrados utilizados se componen de bacterias que se utilizan para la producción de quesos, tales como, por ejemplo, quesos blandos, quesos prensados cocidos, quesos prensados crudos, quesos hilados y leches fermentadas, tales como, por ejemplo, yogures agitados o sedimentados, aromatizados o naturales, yogures para beber, cremas y quesos frescos y también para producir otros productos fermentados, tales como, por ejemplo, vino.

45 Las bacterias utilizadas pueden ser microorganismos mesófilos, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 25 a 35 °C. Entre los microorganismos mesófilos típicamente utilizados, pueden mencionarse, en particular, por ejemplo, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Leuconostoc cremoris*, *Lactococcus lactis biovar. diacetylactis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus faecali*.

50 También pueden utilizarse microorganismos termófilos, es decir, organismos cuya temperatura de crecimiento puede ser de 35 a 45 °C. Se pueden citar en particular, por ejemplo, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Lactobacillus acidophilus* o cualquier otro microorganismo apropiado.

55 Asimismo, pueden utilizarse microorganismos estrictamente anaerobios del tipo de las bifidobacterias, que incluyen *Bifidus bifidum* y *Bifidobacterium longum (animalis)*.

También pueden utilizarse bacterias propiónicas, tales como, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii*, etc.

60 Las bacterias utilizadas pueden ser bacterias del vino, por ejemplo, *Oenococcus oeni (Leuconostoc oenos)*, *Lactobacillus plantarum* o *Pedicoccus sp.*

65 También pueden utilizarse levaduras de la familia *Saccharomycetaceae* u hongos tales como *Penicillium* o *Geotrichum*.

El nivel de fermento concentrado listo para usar o la inoculación de cultivo bacteriano concentrado, varía de acuerdo

con las tecnologías y los productos en consideración. En general, esta proporción es de 0,005 % a 0,025 % en función del peso total del medio que se va a inocular.

5 Generalmente, al producirse, los fermentos se congelan utilizando nitrógeno líquido, después se conservan a una temperatura de -20 a -70 °C.

Dependiendo de su temperatura de congelación, antes de utilizarlos, los fermentos congelados pueden conservarse durante algún tiempo: hasta 1 mes, en caso de conservación a -20 °C, hasta 6 meses, en caso de conservación a -40 °C, y hasta 12 meses, en caso de conservación a -45 °C.

10 Como alternativa, los fermentos secados por congelación se secan por sublimación del agua congelada de un cultivo congelado al reducir la presión en el entorno permitiendo que el agua se evapore directamente en gas sin pasar por la fase líquida. Para el propósito de la invención, las expresiones secado por congelación, liofilización y criodesecación, tienen el mismo significado.

15 Los fermentos secados por congelación generalmente se conservan a -20 °C. En este caso, la vida útil puede ser de hasta 24 meses. También se pueden conservar a +5 °C, pero en este caso su vida útil es de aproximadamente 6 semanas.

20 Otros propósitos, características y ventajas aparecerán después de leer la siguiente descripción de una realización y de diferentes modos de implementación de la invención, proporcionados solo como ejemplos no limitantes, y con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

25 - la figura 1 ilustra esquemáticamente un diagrama de flujo de las diversas etapas de un proceso según un modo de implementación de la invención,

- la figura 2 ilustra esquemáticamente un diagrama de flujo de las diversas etapas de un proceso según un segundo modo de implementación de la invención,

- la figura 3 ilustra esquemáticamente una primera realización según la invención,

30 - la figura 4 ilustra esquemáticamente una segunda realización según la invención,

- la figura 5 representa curvas de control para la acidificación del medio de cultivo a 40 °C del cultivo SSC100 después de la descongelación, en función del tiempo de descongelación 0h, 24h, 48h 72h o 96h en el refrigerador,

- la figura 6 representa curvas de control para la acidificación del medio de cultivo a 37 °C del cultivo ST106 después de la descongelación, en función del tiempo de descongelación 0h, 24h, 48h 72h o 96h en el refrigerador.

35 En la figura 1 se representa esquemáticamente un diagrama de flujo de las diversas etapas de un proceso de inoculación de acuerdo con una realización de la invención.

Antes de la inoculación, los fermentos concentrados se congelan. Después se pueden mezclar y envasar en recipientes.

40 Para esto, en una primera etapa E01, un recipiente se carga de manera estéril con fermentos congelados concentrados. Los recipientes pueden ser envases de mayor o menor capacidad que varía de 200 g a varios kilogramos, que tienen la capacidad de conservar fermentos concentrados compuestos de bacterias que se utilizan para producir quesos, leches fermentadas y otros productos fermentados.

45 Después, en una etapa E02, el orificio del recipiente se sella, manteniendo al mismo tiempo la esterilidad, para obtener un recipiente herméticamente sellado cargado con fermentos concentrados.

50 En una etapa posterior E03, estos fermentos congelados se conservan a una temperatura de -20 a -70 °C durante un tiempo relativamente largo de algunos días a varios meses.

Es posible repetir las etapas E01 a E03 con diferentes recipientes para obtener una pluralidad de recipientes que comprendan los mismos fermentos concentrados congelados.

55 Para la inoculación, en la etapa E04, los fermentos congelados se descongelan *in situ* en uno de los recipientes previamente conservados congelados. Por "in situ", se entiende que los fermentos conservados en el recipiente se transforman en el mismo recipiente en fermentos líquidos concentrados sin transferencia. Esta etapa de descongelación se lleva a cabo a través de medios de refrigeración que actúan sobre el recipiente y más particularmente sobre los fermentos congelados contenidos en el recipiente. En la realización presentada, los fermentos concentrados congelados se agitan durante la descongelación, con el fin de distribuir el calor uniformemente y evitar que se produzcan agregados incompletamente fundidos.

60 En una etapa posterior E05, el recipiente que se ha descongelado, está conectado a un circuito de inyección desechable.

65 En una etapa posterior E06, el recipiente conectado al circuito de inyección, se instala en una cámara de inoculación

y se abre el recipiente.

El recipiente descongelado se vacía después en una etapa E07. Durante el vaciado, la cámara de inoculación se presuriza con un gas estéril neutro con el fin de mantener una presión constante en la misma tanto como sea posible y así facilitar la precisión del flujo de los fermentos concentrados. Los fermentos líquidos descongelados también se conservan a una temperatura de 2 a 12 °C, con el fin de limitar lo más posible la reanudación del metabolismo bacteriano y garantizar una calidad de inoculación constante a lo largo del tiempo.

Mientras se vacía, el recipiente se pesa regularmente, en una etapa E08, para determinar la cantidad de fermentos que queda en el recipiente.

A continuación, en una etapa E09, el peso medido en la etapa anterior se compara con un valor umbral correspondiente al peso del recipiente vacío o casi vacío. Además, dependiendo del peso del recipiente, y por lo tanto dependiendo de la cantidad de fermentos que queda en dicho recipiente, la operación de vaciado del recipiente continúa, reanudándola en la etapa E07 a través de un bucle BCL1, o el recipiente prácticamente vacío se cambia por un recipiente completamente descongelado en una etapa E10. La descongelación de todo el recipiente puede haberse iniciado durante el vaciado del recipiente anterior, o antes de que comience el vaciado de dicho recipiente anterior, por ejemplo, después de que comience la descongelación de dicho recipiente anterior utilizando otra cámara de descongelación.

Estas etapas de vaciado y medición de peso de un recipiente y, opcionalmente, de intercambio de recipiente, según el volumen de fermentos que quedan en el mismo, se llevan a cabo a través de un bucle BCL2.

La disposición en paralelo de diversos recipientes en una cámara de inoculación y la etapa E10 de intercambio de un recipiente a vaciar, permiten obtener un proceso de inoculación continuo en el que una cantidad medida de fermentos concentrados descongelados se introduce constantemente en un flujo de líquido a inocular, en el que después, el líquido inoculado puede introducirse en un fermentador, en un tanque para producir productos fermentados o en un dispositivo para la fermentación, directamente en el recipiente destinado a comercializarse.

Esta inoculación continua da como resultado una mejora en la regularidad de la calidad de los productos finales.

En la figura 2 se representa esquemáticamente un diagrama de flujo de las diversas etapas de un proceso de inoculación de acuerdo con una segunda realización de la invención.

Antes de la inoculación, los fermentos concentrados se secan por congelación. Después pueden mezclarse y envasarse en recipientes.

Para esto, en una primera etapa E010, un recipiente se carga, de forma estéril, con fermentos concentrados secados por congelación. Los recipientes pueden ser envases de mayor o menor capacidad que varía de 200 g a varios kilogramos, que tienen la capacidad de conservar fermentos concentrados compuestos de bacterias que se utilizan para producir quesos, leches fermentadas y otros productos fermentados.

Después, en una etapa E020, el orificio del recipiente se sella, conservando al mismo tiempo la esterilidad, para obtener un recipiente herméticamente sellado cargado con fermentos concentrados.

En una etapa E030 posterior, estos fermentos se conservan a una temperatura de -20 °C durante un tiempo relativamente largo de algunos días a 24 meses.

Es posible repetir las etapas E010 a E030 con diferentes recipientes para obtener una pluralidad de recipientes que comprendan los mismos fermentos concentrados secados por congelación.

Para la inoculación, en la etapa E040, los fermentos secados por congelación se rehidratan *in situ* en el recipiente previamente conservado. Por "in situ", se entiende que los fermentos conservados en el recipiente se transforman en el mismo recipiente en fermentos líquidos concentrados. En este caso, la etapa de rehidratación se lleva a cabo en el propio recipiente sin transferencia de los fermentos desde otro recipiente.

En una realización preferida, el recipiente que contiene los fermentos comprende un envase que forma un recipiente de dos compartimentos, comprendiendo el primer compartimento los fermentos secados por congelación separados del segundo compartimento que comprende el líquido estéril, por una membrana rompible, en el que los fermentos se rehidratan una vez que se rompe la membrana rompible entre las dos cámaras.

En la realización presentada, los fermentos concentrados se agitan durante la rehidratación, para evitar que se produzcan agregados incompletamente disueltos.

En una etapa posterior E050, el recipiente que se ha rehidratado se conecta a un circuito de inyección desechable.

Las etapas E060 a E100 son las mismas que las etapas del proceso de inoculación de la Figura 1.

5 En la figura 3 se representa esquemáticamente un equipo 1 de inoculación según una primera realización de la invención. El equipo 1 comprende una cámara de descongelación 2 que comprende un refrigerador capaz de descongelar un recipiente de fermentos concentrados congelados *Cfc* según la etapa E04 del proceso ilustrado en la figura 1. La cámara de descongelación 2 comprende medios para agitar los fermentos durante la descongelación, que no están representados en la figura, para la homogeneización de los fermentos.

10 El equipo 1 también comprende una cámara de inoculación 3. La cámara de inoculación ilustrada en esta figura comprende dos medios de soporte 4, cada uno capaz de sostener un recipiente de fermentos concentrados descongelados *Cfc1* y *Cfc2*, por ejemplo, un dispositivo de conexión vertical o un dispositivo para sujetar el recipiente, que comprende un conjunto de placas para mantener el recipiente en su lugar y/o un gancho. Es posible conservar ciertos tipos de fermentos concentrados una vez descongelados en la cámara de inoculación 3 durante varias horas y hasta 24 horas, pero preferentemente entre 4 y 8 horas sin efecto particular sobre la reanudación del metabolismo bacteriano o sobre la actividad de las bacterias que constituyen los fermentos concentrados.

15 La cámara de inoculación 3 del equipo 1 comprende, además, medios 5 para pesar el recipiente con el fin de deducir el volumen de los fermentos que queda durante el vaciado (etapas E07 a E09). La cámara de inoculación 3 también comprende medios de homogeneización 6 para homogeneizar los fermentos localizados en el recipiente. A modo de ejemplo no limitativo, puede utilizarse una pluralidad de placas que aplican una presión diferente por placa que varía con el tiempo de paso. La homogeneización puede llevarse a cabo de forma continua o intermitente según sea necesario.

Además, la cámara de inoculación 3 puede comprender medios de climatización no representados en la figura 2. Por lo tanto, la cámara de inoculación 3 se puede enfriar a una temperatura de 2 a 12 °C durante toda la inoculación.

25 La cámara de inoculación 3 puede comprender una pluralidad de medios para sostener el recipiente de fermentos concentrados descongelados *Cfc*, estando conectados los recipientes *Cfc* a través de un circuito de inyección 7 a un circuito para la alimentación continua 10 del líquido a inocular. En la realización ilustrada en la figura 2, el circuito de inyección 7 comprende una válvula 8 conectada a un primer recipiente *Cfc1* a través de una primera parte de circuito 12, a un segundo recipiente *Cfc2* a través de una segunda parte de circuito 13 y al circuito de alimentación 10 a través de una tercera parte de circuito 14. Por tanto, la válvula 8 permite cambiar el recipiente *Cfc1* o *Cfc2* sin interrumpir el proceso de inyección.

30 El circuito de inyección 7 también comprende una bomba 9 instalada en la tercera parte de circuito 14, consecuentemente aguas abajo de la válvula 8. La bomba 9 sirve para regular el caudal de fermentos concentrados líquidos aferentes del recipiente *Cfc1* o *Cfc* en su lugar en la cámara de inoculación 3. Las bombas de regulación utilizadas, como la bomba 9, pueden proporcionarse según el caudal del circuito principal del medio inoculado; típicamente en la industria láctea, los intervalos de flujo de la bomba varían de 0,1 l/hora a 4 l/hora, para equipos de 2 a 10 000 l/hora, hasta 0,75 l/hora a 12 l/hora para equipos de 15 000 a 30 000 l/hora.

40 El circuito de inyección 7 también puede comprender medios de conexión 15 al nivel del recipiente o de los recipientes *Cfc1* y *Cfc2* en la cámara de inoculación 3, y al nivel de la unión entre la parte de circuito 14 y el circuito de alimentación 10.

45 Estos medios de conexión 15 permiten esterilizar y limpiar más fácilmente el circuito de inyección 7. En otra realización, estos medios de conexión permiten cambiar las partes 12, 13 y 14 del circuito de inyección 7 para reemplazarlas por otras que sean estériles, por ejemplo, durante el cambio en la composición de los fermentos que se van a utilizar para inocular la tubería 10 para la alimentación del líquido que se va a inocular.

50 La cámara de inoculación 3 también puede comprender medios, no representados en la figura, para comprobar la presión dentro de la cámara de inoculación 3.

El equipo 1 también comprende una unidad de fermentación 11 conectada al circuito 10 para la alimentación del líquido que se va a inocular. La inoculación de dicho líquido se lleva a cabo golpeteando en la tubería del circuito de alimentación 10, haciendo posible conectar la tercera parte de circuito 14 del circuito de inyección 7.

55 En este caso, la unidad de fermentación 11 se reproduce en forma de un fermentador. Por supuesto, también es posible contemplar que la unidad de fermentación 11 sea un tanque para producir productos fermentados o un dispositivo para la fermentación directamente en el recipiente destinado a comercializarse, por ejemplo, un tarro de producto lácteo.

60 La cuantificación de los fermentos descongelados es una parte esencial del proceso de inoculación de la unidad de fermentación.

65 En la figura 4 se representado esquemáticamente un equipo de inoculación 1 según una segunda realización de la invención.

El equipo 1 comprende una cámara de transformación 2 que comprende el recipiente que contiene los fermentos concentrados *Cfd* rehidratados según la etapa E040 del proceso ilustrado en la figura 2. Para la homogeneización de los fermentos, la cámara de transformación 2 comprende medios, no representados en la figura, para agitar los fermentos durante la rehidratación.

5 El equipo 1 también comprende una cámara de inoculación 3. La cámara de inoculación ilustrada en esta figura comprende cuatro medios de soporte 4, capaces de sostener los recipientes de fermentos concentrados rehidratados *Cfd1* y *Cfd2*, por ejemplo un dispositivo de fijación vertical o un dispositivo para sujetar el recipiente, que comprende un conjunto de placas para mantener el recipiente en su lugar y/o un gancho. Es posible conservar ciertos tipos de fermentos concentrados una vez rehidratados en la cámara de inoculación 3 durante varias horas y hasta 24 horas, pero preferentemente entre 4 y 8 horas sin efecto particular sobre la reanudación del metabolismo bacteriano o sobre la actividad de las bacterias que constituyen los fermentos concentrados.

15 En la figura 3, a las mismas partes se las asignan los mismos números de referencia.

Cualquiera que sea la realización de la invención, el equipo de inoculación permite obtener un flujo en línea continuo y preciso de una pequeña cantidad de fermentos concentrados desde fermentos concentrados para inocular una unidad de fermentación. Por lo tanto, la invención permite utilizar directamente, desde su recipiente, los fermentos concentrados, en la línea de líquido a inocular sin que ello conlleve a una fase intermedia arriesgada. Cualquier fase de manipulación intermedia conduce inevitablemente a riesgos de contaminación accidental que son perjudiciales para todo el proceso posterior para producir el producto fermentado. Además, la inoculación directa en la línea de líquido justo antes de la adición del cuajo, permite limitar cualquier tipo de proliferación de fagos.

#### 25 **Ejemplo 1: control de la acidificación del medio de cultivo después de la descongelación utilizando un dispositivo refrigerador**

Los fermentos SSC-100 (*Streptococcus thermophilus* con acidificación lenta) y STI06 (*Streptococcus thermophilus* con acidificación rápida) se envasan en bolsas estériles de 5 litros, es decir, 2,5 kg de fermentos en forma de gránulos congelados conservados a una temperatura de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

30 Las bolsas se colocan en un refrigerador.

Los fermentos previamente conservados a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  se sometieron a refrigeración durante 12 horas para lograr la fusión completa.

35 Las bolsas se colocan en un agitador durante la descongelación para garantizar una fusión homogénea de los fermentos concentrados.

40 Las pruebas para la acidificación del medio de cultivo se llevaron a cabo en leche reconstituida con un contenido de sólidos del 9,5 % de leche desnatada en polvo, calentada a  $99\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. La dosis de inoculación es de 0,01 % para SSC-100 con una temperatura de maduración de  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  y de 0,01 % para STI06 con una temperatura de maduración de  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

45 Los resultados del control de la actividad acidificante de cada una de las cepas analizadas se presentan a continuación como curvas de variación en el pH del medio inoculado en función del tiempo, las cepas a analizar se descongelaron previamente en un dispositivo refrigerador (Figuras 5 y 6).

50 En particular, la figura 5 representa curvas de control para la acidificación del medio de cultivo del cultivo de SCC-100, la figura 6 representa curvas de control para la acidificación del medio de cultivo del cultivo de STI06, después de descongelar en un refrigerador en función del tiempo en el refrigerador.

55 En cada una de las figuras, la primera curva referenciada C1 corresponde al control para el cultivo de los fermentos sin descongelación previa, y las curvas C2 a C5 representan las curvas obtenidas después del tiempo de descongelación durante el tiempo de descongelación de 24, 48, 72 o 96 horas respectivamente.

Los controles de acidificación para las diversas cepas analizadas, permiten deducir que no hay ningún efecto significativo del tiempo de descongelación en un refrigerador de los fermentos sobre los niveles de rendimiento de actividad acidificante.

60 Por lo tanto, se demostró que es posible descongelar varios tipos de cultivos bacterianos concentrados congelados durante varias horas a una temperatura de  $2$  a  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$  sin efecto particular sobre la reanudación del metabolismo bacteriano y sobre la actividad, en particular, actividad acidificante, de los fermentos en consideración.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la inoculación continua de un producto alimentario, en particular, un producto lácteo, con fermentos, que comprende las siguientes etapas:
- 5 - los fermentos concentrados sólidos conservados en un recipiente se transforman *in situ* en fermentos concentrados líquidos,
- los fermentos concentrados transformados se inyectan constantemente en un flujo de líquido para ser inoculados (E06, E060, E07, E070),
- 10 caracterizado por que los fermentos concentrados líquidos se transforman
- descongelando los fermentos concentrados congelados mediante una cámara de temperatura controlada entre 0 y 15 °C (E04) o
- rehidratando los fermentos concentrados secados por congelación (E040).
- 15 2. Proceso para la inoculación según la reivindicación 1, en el que el recipiente se pesa constantemente para determinar, durante el vaciado, el volumen que queda en el recipiente pesado (E08, E080, E09, E090).
3. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la inyección se lleva a cabo a través de medios de conexión, que se cambian según los fermentos utilizados.
- 20 4. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el recipiente se coloca en una cámara de inoculación a una presión superior a la atmosférica.
5. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que varios recipientes se colocan en paralelo, vaciándose uno de ellos mientras que al menos otro está en espera.
- 25 6. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que se regula el caudal de los fermentos inyectados en forma líquida.
7. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el recipiente que contiene los fermentos concentrados congelados se conserva a una temperatura de -20 a -70 °C antes de la descongelación del mismo (E03).
- 30 8. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la descongelación de los fermentos concentrados congelados en la cámara de temperatura controlada dura de 5 a 30 horas.
- 35 9. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la cámara de temperatura controlada es un refrigerador.
10. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que los fermentos concentrados congelados se agitan durante la descongelación.
- 40 11. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el recipiente que contiene los fermentos concentrados secados por congelación se conserva a una temperatura de -20 °C a temperatura ambiente antes de la rehidratación del mismo (E030).
- 45 12. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 u 11, en el que los fermentos concentrados secados por congelación se agitan durante la rehidratación.
13. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que los fermentos líquidos se conservan a una temperatura que varía de 2 a 12 °C.
- 50 14. Proceso para la inoculación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que los fermentos líquidos se homogeneizan durante el vaciado.
- 55 15. Equipo (1) para la inoculación continua de fermentos en un líquido a inocular, originándose los fermentos a partir de fermentos concentrados congelados, que comprende una cámara de temperatura controlada (2) para descongelar un recipiente que comprende fermentos concentrados congelados (Cfc), una cámara de inoculación (3) provista de medios de soporte (4) para instalar al menos dos recipientes de fermentos descongelados (Cfc1 y Cfc2) y con al menos un dispositivo de medición de peso (5) capaz de determinar constantemente el volumen que queda en el recipiente que se va a vaciar, comprendiendo también el equipo (1) un circuito de inyección (7) que conecta los recipientes (Cfc1 y Cfc2) a un circuito (10) para la alimentación continua del líquido a inocular, comprendiendo el circuito de inyección (7) una válvula (8) que permite cambiar de un recipiente (Cfc1) a otro recipiente (Cfc2) y medios (9) para regular el caudal de los fermentos en forma líquida, y
- 60 en el que la cámara de temperatura controlada es un refrigerador.
- 65

FIG.1

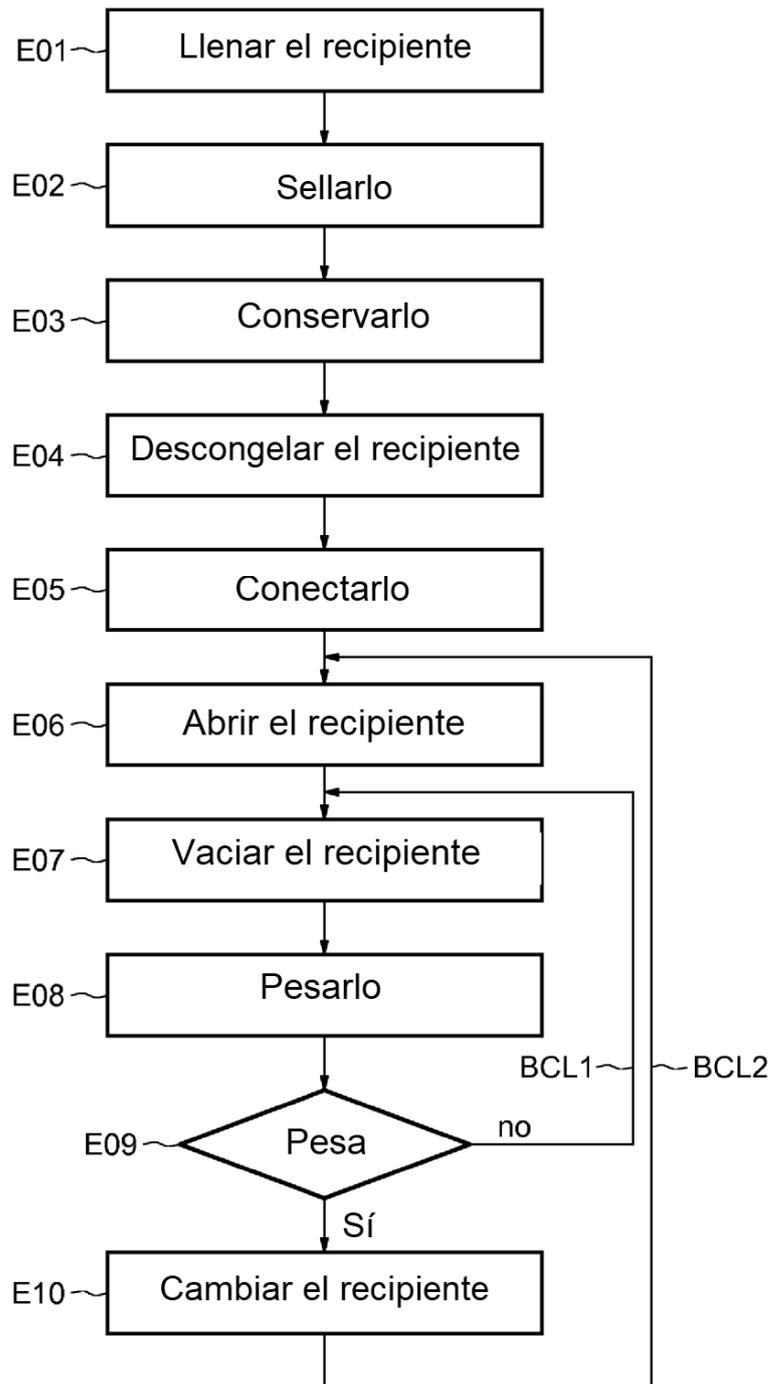
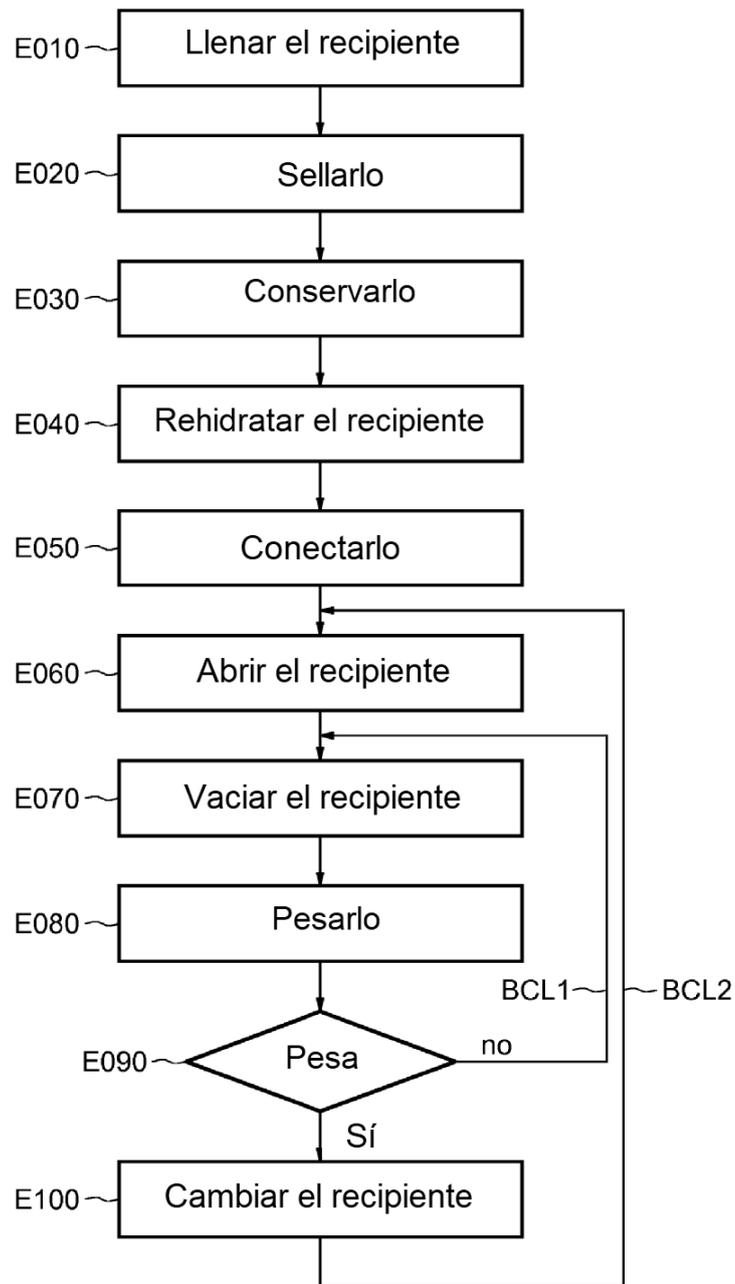
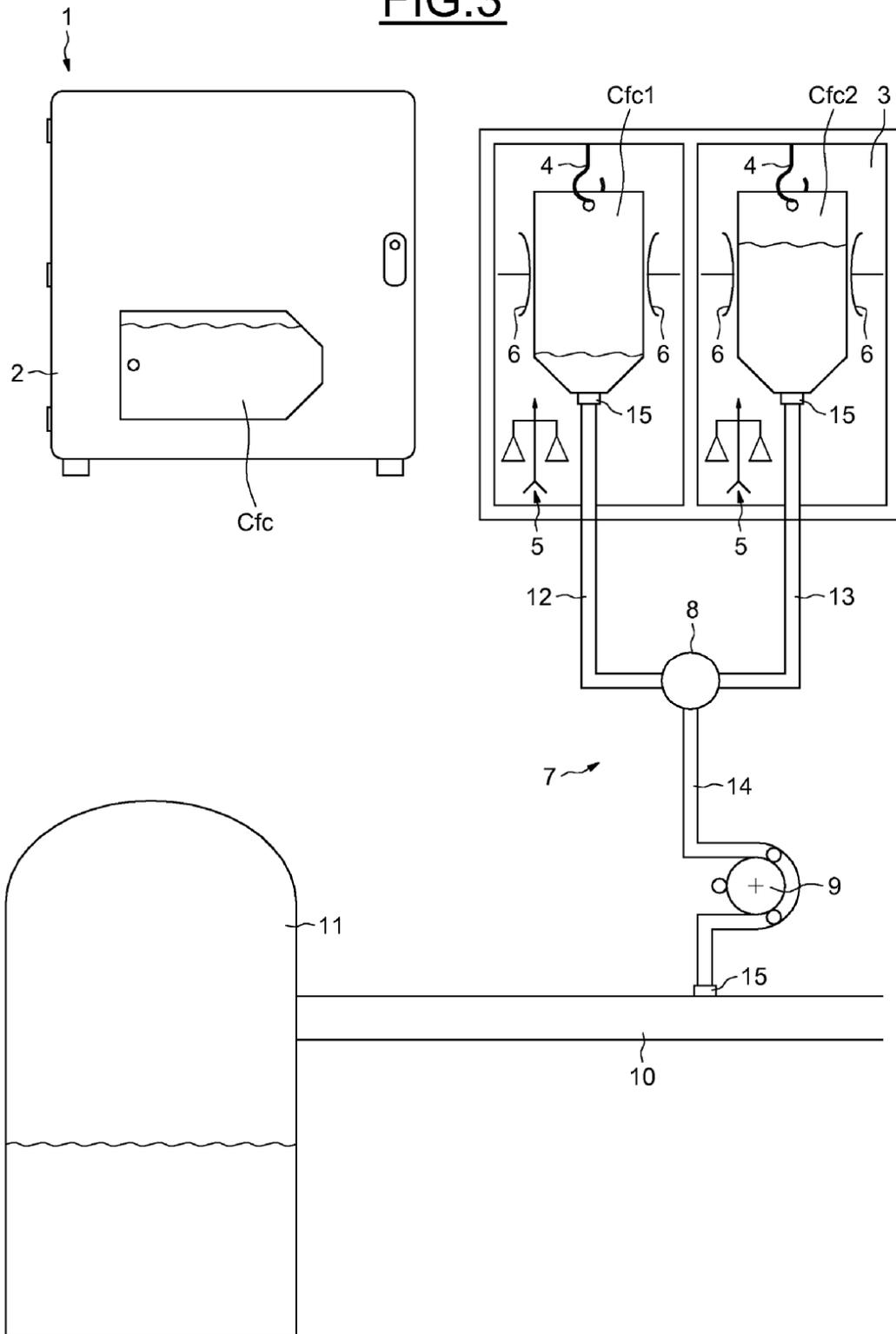


FIG.2



**FIG.3**



**FIG.4**

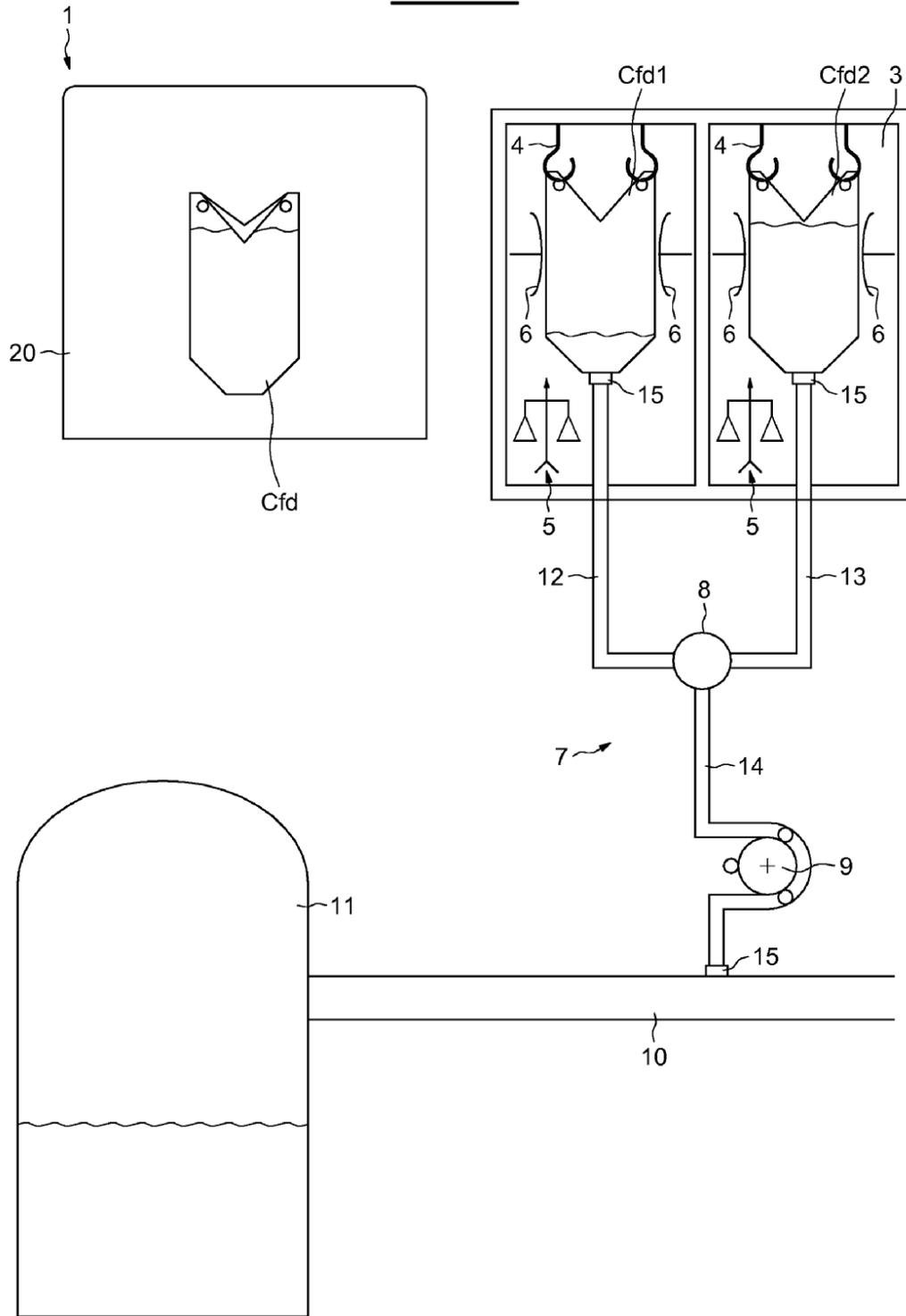


FIG.5

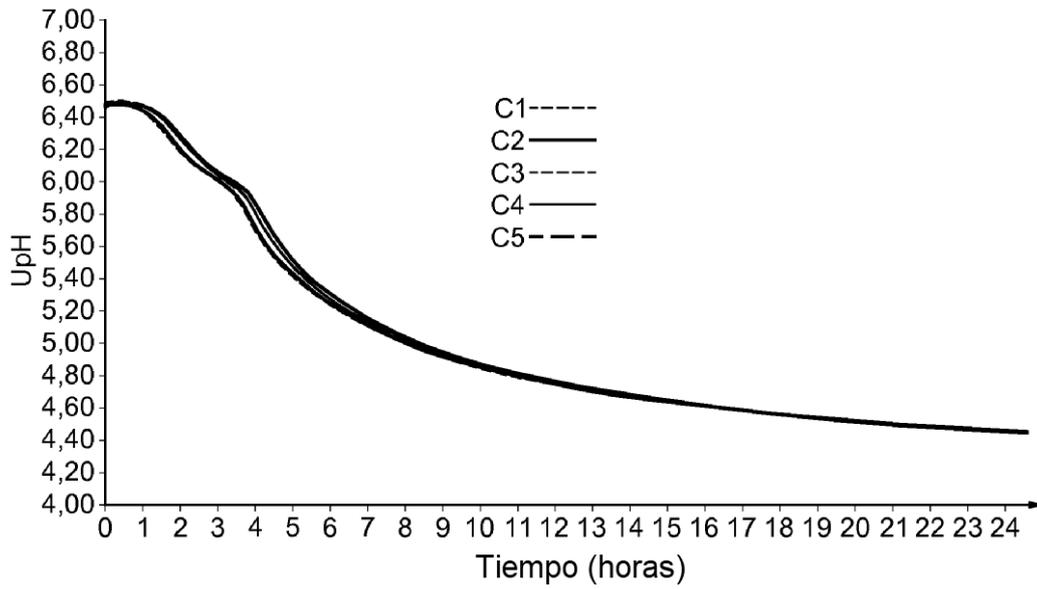


FIG.6

