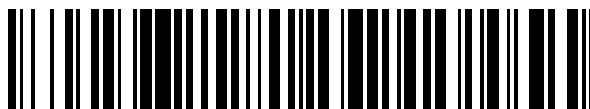


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 423**

51 Int. Cl.:

C12G 1/022 (2006.01)

A23L 2/84 (2006.01)

C12C 5/00 (2006.01)

C12C 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2013 PCT/EP2013/076087**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.06.2014 WO14090803**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2013 E 13805334 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 2931869**

54 Título: **Preparación de una bebida estable**

30 Prioridad:

11.12.2012 EP 12196433

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.06.2019

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**MUTSAERS, JOHANNA HENRICA GERDINA
MARIA;
EDENS, LUPPO y
HEIJNE, WILBERT HERMAN MARIE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 717 423 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

Preparación de una bebida estable

- 5 La presente invención se refiere a un proceso de preparación de una bebida que es estable durante un periodo prolongado de tiempo

Antecedentes

- 10 La turbiedad es un fenómeno bien conocido en la industria de las bebidas. La turbiedad puede estar presente en la cerveza, el vino y el zumo de fruta. La formación de turbiedad puede producirse en diferentes fases durante un proceso de fabricación. En "Enzymes in food processing" editado por T. Nagodawithana y G. Reed, 3.^a edición, Academic press Inc., San Diego, capítulo V, pág. 448-449, se ha propuesto que la turbiedad en la cerveza es el resultado de interacciones entre proteínas de la cerveza y procianidinas polifenólicas. Se explica que en la cerveza
- 15 la turbiedad se forma a menudo tras refrigerar la cerveza. La cerveza se fermenta, madura, estabiliza en frío y finalmente se envasa a menudo en condiciones refrigeradas. Para conseguir claridad, la cerveza a menudo se filtra mientras está fría. A pesar de la filtración, la cerveza a menudo puede quedar turbia después de envasarse y distribuirse a los usuarios y refrigerarse de nuevo antes de servirla. Finalmente, la turbiedad puede incluso formarse en cerveza cuando no está refrigerada o ya no está refrigerada y se puede desarrollar sedimento. La formación de
- 20 turbiedad es indeseable porque el enturbiamiento causado por la formación de turbiedad se parece al enturbiamiento producido por contaminación microbiana, que es indeseable, especialmente para las cervezas brillantes

- 25 El documento WO 2002/046381 divulga un proceso para la reducción de turbiedad en una bebida añadiendo una endoproteasa específica de prolina a la bebida. El documento WO 2002/046381 divulga además que reduciendo la turbiedad con endoproteasa específica de prolina, aún hay presente un alto contenido de antioxidantes, tales como polifenoles en la bebida. Estos polifenoles antioxidantes se consideran valiosos como ingrediente que mejora la salud.

- 30 El documento WO 2003/104382 divulga que además de añadir endoproteasa específica de prolina para reducir la turbiedad en una bebida, la solubilidad de los péptidos puede aumentarse añadiendo una exo- y/o endoproteasa auxiliar a la bebida, por lo que se postula que la interacción entre los polipéptidos restantes con los polifenoles se reduce más.

- 35 Aparte de las proteínas, los polifenoles también se consideran implicados en la formación de turbiedad. La precipitación de proteínas se considera estimulada por pequeñas cantidades de polifenoles (Minussi *et al.*, Trends in Food Science and Technology 2002, Vol. 13, pág. 205-216). El documento US 4411914 divulga que la estabilidad coloidal de la cerveza puede mejorarse añadiendo una polifenoloxidasas para oxidar polifenoles y después retirando el precipitado resultante.

- 40 Se descubrió que después de añadir endoproteasa específica de prolina o polifenoloxidasas en solitario, aún puede formarse turbiedad en una bebida tal como cerveza después de almacenamiento prolongado.

El objetivo de la presente invención es producir una bebida estable.

- 45 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una bebida, que comprende añadir una proteasa específica de prolina y una polifenoloxidasas a la bebida, y preparar la bebida.

- 50 De forma ventajosa, se descubrió que también después de almacenamiento prolongado se formaba menos turbiedad en una bebida, tal como cerveza, que se trató con una proteasa específica de prolina y una polifenoloxidasas en comparación con una bebida producida con una de las enzimas en solitario.

Descripción detallada

- 55 La presente divulgación se refiere a un proceso para la preparación de una bebida, que comprende añadir una proteasa específica de prolina y una polifenoloxidasas a la bebida, y preparar la bebida.

- 60 Como se usa en este documento, la palabra "bebida" incluye bebidas en todas las fases de su preparación. Una bebida no es solamente una bebida lista para su consumo, sino que también puede ser cualquier forma intermedia de una bebida. Una forma intermedia de una bebida puede no ser completamente líquida. Por ejemplo, el mosto que se usa en la preparación de cerveza está abarcado por la palabra "bebida".

- 65 En una realización, una bebida es una cerveza. Una cerveza en un proceso como se divulga en este documento puede ser una cerveza preparada a partir de pulpas de cereales sin maltear, así como cereales malteados, o de pulpas preparadas a partir de una mezcla de cereales malteados y sin maltear. Ejemplos de cereales a partir de los

que puede prepararse cerveza son cebada y trigo. Además, la cerveza puede prepararse con complementos tales como maíz, arroz o cassava. La cerveza, como se usa en este documento, puede tener todos los contenidos alcohólicos posibles, por ejemplo, entre un 0 y un 12 % v/v, tal como entre un 1 y un 10 % v/v o de un 2 a un 8 % v/v. Hay una gran diversidad en los procesos para preparar cerveza, que son conocidos para los expertos en la materia.

Típicamente, un proceso para preparar cerveza comprende una fase de preparación de una pulpa y de separación de mosto de la pulpa, una fase de fermentación, una fase de maduración y una fase de estabilización. Algunos procesos para preparar cerveza comprenden una fase de filtración de la cerveza. En algunos procesos, la fermentación se conoce como fermentación primaria. La fase de fermentación es la fase en la fabricación de cerveza destinada a fermentar los azúcares disponibles en alcohol mediante levadura añadida. La fase de maduración también se conoce como fermentación secundaria y está destinada a convertir los componentes aromáticos indeseables tales como dicetonas en componentes de mejor sabor. La estabilización esta destinada a promover la formación de agregados de polifenol-proteína y posibilitar la precipitación. Opcionalmente, un proceso para preparar cerveza comprende una etapa de filtración, por ejemplo, después de estabilización. Habitualmente, la cerveza se envasa después de la estabilización y/o filtración, por ejemplo, en botella, bote o barril.

En general, durante la fabricación de cerveza, pueden comprobarse varios parámetros. El final de la fase de fermentación puede determinarse, por ejemplo, midiendo la densidad de la cerveza que se está preparando. El final de la fase de fermentación en general se considera el inicio de la fase de maduración. El final de la fase de maduración y, por lo tanto, el inicio de la fase de estabilización puede determinarse midiendo la cantidad del contenido de diacetilo presente en la cerveza. Sin embargo, en la práctica, el contenido de diacetilo puede variar dependiendo del tipo de cerveza deseado.

En otra realización, una bebida en un proceso como se divulga en este documento es un vino o zumo de fruta. El vino se prepara habitualmente a partir de uvas. El zumo de fruta puede ser zumo obtenido de, por ejemplo, frutos rojos, fresas, manzanas, peras, tomates, cítricos, hortalizas, etc.

Una proteasa específica de prolina y una polifenoloxidasas puede añadirse a una bebida durante cualquier fase adecuada en una preparación de una bebida. La proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas no tienen que añadirse al mismo tiempo, pero pueden añadirse en una fase diferente durante la preparación de una bebida. Como la polifenoloxidasas requiere oxígeno para su actividad, es esencial que haya oxígeno presente en la bebida durante al menos una determinada fase en la preparación de una bebida. En el caso de que la bebida sea cerveza, la proteasa específica de prolina y/o polifenoloxidasas puede añadirse durante la fase de fermentación en un proceso para preparar cerveza. Como alternativa, la proteasa específica de prolina y/o polifenoloxidasas puede añadirse antes de la fase de fermentación en un proceso para preparar cerveza. La proteasa específica de prolina y/o polifenoloxidasas también puede añadirse a la cerveza después de la fase de fermentación, por ejemplo, durante o después de una fase de estabilización en frío, en un proceso para preparar cerveza.

En una realización del proceso como se divulga en este documento, la bebida es un zumo de fruta o vino.

En un proceso para la preparación de un zumo de fruta, la proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas pueden añadirse durante la maceración o despectinización.

En un proceso para preparar vino, la proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas pueden añadirse durante o después de la fermentación alcohólica o después de la fermentación maloláctica.

Como la formación de turbiedad a menudo se produce en bebidas ácidas tales como cerveza, zumo de fruta y vino, la proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas tienen de forma ventajosa un pH óptimo para la actividad a un pH por debajo de pH 7, pero esto no es esencial. Por ejemplo, la proteasa específica de prolina tiene un pH óptimo entre 3 y 7. La polifenoloxidasas puede tener un pH óptimo entre 4 y 7. Los óptimos de pH de actividad proteasa específica de prolina y/o polifenoloxidasas se miden de acuerdo con los procedimientos resumidos en la sección de materiales y métodos.

En un proceso para preparar cerveza, el pH en la cerveza al inicio de la fase de fermentación puede ser de aproximadamente 5 a 6 y durante la fermentación el pH habitualmente disminuye hasta aproximadamente pH 4.

La cantidad de proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas que se añade a la bebida puede variar entre amplios límites y depende, entre otros factores, de la cantidad de proteínas y polifenoles presentes en el material de partida, tal como cebada, trigo en caso de cerveza, o frutas de las que se prepara una bebida. Una cantidad adecuada de proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas que se añade a una bebida puede ser entre 0,1 mg/l y 200 mg/l, tal como entre 0,5 mg/l y 100 mg/l, tal como entre 1 y 50 mg/l, de 0,05 mg/l a 10 mg/l.

En esta descripción, las palabras turbiedad, turbidez y enturbiamiento se usan indistintamente. La turbiedad, turbidez o enturbiamiento puede formarse como resultado de interacciones de proteína-polifenol o polifenol-polifenol.

Un polifenol se define como un compuesto que tiene una estructura química, cuya estructura contiene al menos dos anillos aromáticos sustituidos con al menos un grupo hidroxilo o que tiene una estructura química que contiene al

menos un anillo aromático sustituido con al menos dos grupos hidroxilo. Ejemplos de polifenoles son taninos y flavonoides, por ejemplo, catequinas, flavonoles y antocianina.

Las palabras péptido o proteína se usan indistintamente en este documento. Los péptidos o proteína son polímeros de monómeros de aminoácido.

Una endoproteasa específica de prolina se define en este documento como una endoproteasa que corta proteínas o péptidos en lugares donde la proteína o péptido contiene un resto de prolina en su cadena.

Los esquemas reconocidos internacionalmente para la clasificación y nomenclatura de todas las enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB) incluye proteasas. El texto de la IUBMB actualizada para los números EC de proteasa puede encontrarse en el sitio web de IUBMB. En este sistema, las enzimas se definen por el hecho de que catalizan una única reacción. El sistema clasifica las proteasas en endo- y exoproteasas. Las endoproteasas son aquellas enzimas que hidrolizan enlaces peptídicos internos, las exoproteasas hidrolizan enlaces peptídicos adyacentes a un grupo α -amino terminal ("aminopeptidasas") o un enlace peptídico entre el grupo carboxilo terminal y el penúltimo aminoácido ("carboxipeptidasas"). Las endoproteasas se dividen en subsubclases basándose en el mecanismo catalítico. Hay subsubclases de serina endoproteasas (EC 3.4.21), cisteína endoproteasas (EC 3.4.22), aspártico endoproteasas (EC 3.4.23), metaloendoproteasas (EC 3.4.24) y treonina endoproteasas (EC 3.4.25). El documento WO 2002/046381 divulga una endoproteasa específica de prolina que se puede obtener se *Aspergillus niger*. La endoproteasa específica de prolina pertenece a la subclase de serina endoproteasas (EC 3.4.21). Una endoproteasa específica de prolina en un proceso de la presente invención pertenece a la clasificación enzimática EC 3.4.21.26.

Una proteasa específica de prolina adecuada en un proceso de la presente invención puede ser una endoproteasa específica de prolina o una oligopeptidasa específica de prolina, preferiblemente una endoproteasa específica de prolina. Los endoproteasa específica de prolina adecuada o una oligopeptidasa específica de prolina puede obtenerse de cualquier microorganismo adecuado, por ejemplo, *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata*, *Penicillium sp.*, por ejemplo, *Penicillium chrysogenum* o *Aspergillus sp.* por ejemplo *A. niger*.

Una polifenoloxidasas en un proceso de la invención pertenece a la clasificación EC de enzimas E.C 1.10.3.1 (catecol oxidasa), EC 1.10.3.2 (lacasa) o E.C. 1.14.18.1 (monofenol monooxidasa). La polifenoloxidasas es un grupo de enzimas que oxidan mono- o difenoles o derivados de los mismos. Las polifenoloxidasas están extendida en la naturaleza y se producen en plantas, bacterias y hongos. La polifenoloxidasas en un proceso como se divulga en este documento puede obtenerse de *Trametes sp.* tal como *Trametes versicolor*, y *Trametes villosa*, *Agaricus bisporus*, *Streptomyces coelicolor*, *Pleurotus sp.* tal como *P. ostreatus*, *Pycnoporus*, *Polyporus*, *Myceliophthora thermophila*, *Aspergillus sp*, *Neurospora*, y *Bacillus sp.*

Las enzimas proteasa específica de prolina y polifenoloxidasas como se divulgan en este documento pueden producirse por un proceso de fermentación de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Para maximizar la producción, las enzimas pueden expresarse en un organismo hospedador adecuado tal como *Bacillus*, *Pichia* o *Aspergillus sp.*, tal como *Bacillus subtilis*, *Pichia pastoris*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae*. La enzima puede recuperarse del caldo de cultivo por métodos bien conocidos, tales como precipitación en sulfato de amonio o etanol, extracción con ácido o cromatografía de intercambio aniónico o catiónico. Puede emplearse cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) para la purificación.

Con la presente se describe una bebida que se puede obtener por un proceso como se divulga en este documento. Se descubrió ventajosamente que la bebida era estable, es decir, durante almacenamiento se formaba menos turbiedad en comparación con una bebida que se preparaba con proteasa específica de prolina o polifenoloxidasas en solitario.

Descripción de las figuras

Figura 1. Turbiedad en cerveza a 20 °C medida a un ángulo de dispersión de H25 después de almacenamiento de hasta 6 meses. Se preparó cerveza en presencia de endoproteasa específica de prolina (Brewers Clarex™), polifenoloxidasas (Laccase M120), Brewers Clarex y Laccase M120 o sin enzimas añadidas (referencia).

Figura 2. Turbiedad en cerveza a 20 °C medida a un ángulo de dispersión de H90 después de almacenamiento de hasta 6 meses. Se preparó cerveza en presencia de endoproteasa específica de prolina (Brewers Clarex™), polifenoloxidasas (Laccase M120), Brewers Clarex y Laccase M120 o sin enzimas añadidas (referencia).

Figura 3. Turbiedad en cerveza a 0 °C medida a un ángulo de dispersión de H25 después de almacenamiento de hasta 6 meses. Se preparó cerveza en presencia de endoproteasa específica de prolina (Brewers Clarex™), polifenoloxidasas (Laccase M120), Brewers Clarex y Laccase M120 o sin enzimas añadidas (referencia).

Figura 4. Turbiedad en cerveza a 0 °C medida a un ángulo de dispersión de H90 después de almacenamiento de hasta 6 meses. Se preparó cerveza en presencia de endoproteasa específica de prolina (Brewers Clarex™), polifenoloxidasas (Laccase M120), Brewers Clarex y Laccase M120 o sin enzimas añadidas (referencia).

5 Ejemplos

Materiales y métodos

Endoproteasa específica de prolina de *A. niger*

10 Se usó una muestra comercial de endoproteasa específica de prolina de *A. niger*, Brewers Clarex™ (5 PPU/g de producto). La actividad de endoproteasa específica de prolina se midió en el péptido sintético Z-Gly-Pro-pNA a 37 °C en un tampón de citrato/fosfato de disodio pH 4,6.

Los productos de reacción se controlan espectrofotométricamente a 405 nM. Una unidad (1 PPU) se define como la cantidad de enzima que libera 1 µmol de p-nitroanilida por minuto en estas condiciones de ensayo.

15 Polifenoloxidasas

Laccase M120 (no menos de 108 000 POU/g de producto) es una polifenoloxidasas obtenida de Amano Enzyme (Chipping Norton, R.U.).

20 La actividad lacasa se midió de acuerdo con las instrucciones de Amano (E211: El método de ensayo para actividad lacasa = método P-4AA), controlando el aumento de absorbancia de tinte de quinona-imina a 505 nm en las condiciones de ensayo.

4-amino-antipirina + fenol + O₂ → tinte de quinona-imina + H₂O.

Una unidad la lacasa (POU) se define como la cantidad de la enzima contenida en 1 ml de la mezcla de reacción, cuya absorbancia aumenta a una tasa de 0,1 por minuto en las condiciones de ensayo.

25 Mediciones de turbidez

La turbidez o turbiedad se midió con un turbidímetro de ángulo doble VOS Rota 90/25 de Haffman o un aparato equivalente. Los dos ángulos, 90 y 25 grados, se indican como H90 y H25.

30 El calibrado del instrumento se realizó de acuerdo con el método 9.29 de analítica EBC usando patrones AEPA-1. El resultado de la medición de turbiedad se expresó en unidades EBC.

Ejemplo 1: Formación de turbiedad en cerveza tratada con endoproteasa específica de prolina, polifenoloxidasas y la combinación de estas dos enzimas.

35 Se produce cerveza a una escala de planta piloto. En todos los experimentos el protocolo de macerado es exactamente igual. Al inicio de la fermentación, se añaden enzimas. Como una referencia, se usa Brewers Clarex™ y polifenoloxidasas en solitario. Además, se ensayan combinaciones de Brewers Clarex™ y polifenoloxidasas. Todos los experimentos se hacen a una concentración de oxígeno convencional en el mosto de 12 ppm, así como a una concentración doble de oxígeno de 24 ppm. La fermentación va seguida por una maduración en frío/estabilización y posterior filtración. La cerveza entonces se embotella sin usar PVPP o sílice y se almacena a 20 grados Celsius.

La turbiedad de la cerveza se mide a 20 °C y 0 °C y después se fuerza durante 6 días 60 °C y posterior enfriamiento durante una noche a 0 °C.

45 Se mide la vida útil en tiempo real después de almacenamiento a 20 °C y 24 horas de refrigeración a 0 °C durante varios meses.

La turbidez de la cerveza se mide como se indica anteriormente.

50 Después de forzarla, la cerveza preparada con una combinación de endoproteasa específica de prolina (Brewers Clarex) y polifenoloxidasas tiene una turbidez menor en comparación con las cervezas hechas con endoproteasa específica de prolina o polifenoloxidasas en solitario.

Ejemplo 2: Formación de turbiedad en cerveza tratada con endoproteasa específica de prolina, polifenoloxidasas y la combinación de estas dos enzimas.

55 De acuerdo con un procedimiento de fabricación de cerveza convencional, se produjo cerveza en una escala de planta piloto. Se usó malta Weyermann® Pilsner al 100 % recogida en 2013. Esta malta es representativa de una malta de buena calidad. Después de la molienda, la malta se transfiere a un recipiente de conversión de pulpa. La malta se extrae usando un esquema de macerado convencional que se muestra a continuación:

62 °C 5 min,
66 °C 30 min,
72 °C 20 min,

65 separar por macerado a 78 °C durante 5 min.

Después de la separación por macerado, la pulpa se filtró posteriormente sobre una cuba-filtro y el mosto resultante se hirvió. Se usaron gránulos de Hopsteiner® Polaris de tipo 90 calculados a 30 BU. Después de hervirlo el mosto se enfrió. El mosto de fermentación fue de 12° P. El nivel de oxígeno se llevó hasta 12 ppm que es un nivel normal para un mosto de 12° P. La fermentación se inició añadiendo una levadura de cerveza convencional. La fermentación se continuó a 12 °C hasta que el extracto aparente fue de $\leq 3,5\%$. Después se aumentó la temperatura hasta temperatura ambiente para un resto de diacetilo de 2-3 días hasta que el nivel de diacetilo fuera $< 0,1$ mg/l. La posterior fase de maduración fue una semana a 0 °C. Después de filtrar la cerveza, se carbonató, embotelló y pasteurizó.

10 Se realizaron los siguientes ensayos:

1. Referencia sin enzimas añadidas
2. Brewers Clarex a 3 g/Hl
3. Laccase M120 a 0,3 g/Hl
- 15 4. Brewers Clarex a 3 g/Hl más Laccase M120 a 0,3 g/Hl

Las enzimas se añadieron al mosto de fermentación después de la oxigenación.

20 Las botellas se almacenaron a 20 °C y cada mes se midió la turbiedad en la cerveza a 20 °C y a 0 °C. Para la medición a 0 °C, las botellas se almacenaron primero a 0 °C durante 24 h. Todas las mediciones de turbiedad se realizaron usando el turbidímetro de ángulo doble VOS Rota 90/25 de Haffman como se describe anteriormente. Los resultados, presentados en las figuras 1 a 4, muestran que la cerveza producida con Brewers Clarex y Laccase M120 tenía un menor valor de turbiedad durante un periodo prolongado de tiempo en comparación con el valor de turbiedad de cervezas producidas con Brewers Clarex o Laccase en solitario.

25 **Ejemplo 3: Polifenoles en cerveza tratados con endoproteasa específica de prolina, polifenoloxidasas y la combinación de estas dos enzimas.**

30 Se produce cerveza a una escala de planta piloto. En todos los experimentos el protocolo de macerado es exactamente igual. Al inicio de la fermentación, se añaden combinaciones de enzimas endoproteasa específica de prolina y polifenoloxidasas. Como una referencia, se añade endoproteasa específica de prolina o polifenoloxidasas en solitario a la fermentación. Todos los experimentos se hacen a una concentración de oxígeno convencional en mosto de 12 ppm, así como a una concentración de oxígeno doble de 24 ppm. La fermentación va seguida de una maduración en frío y posterior filtración.

35 Las cervezas se analizan para los polifenoles.

La cerveza hecha con la combinación de Brewers Clarex y polifenoloxidasas muestra un menor contenido de polifenol en la cerveza final.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la preparación de una bebida, que comprende añadir una proteasa específica de prolina y una polifenoloxidasa a la bebida, y preparar la bebida.
- 5 2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la bebida es una cerveza.
3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la bebida es un vino o zumo de fruta.
- 10 4. Proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la proteasa específica de prolina y/o polifenoloxidasa se añade antes de, durante o después de una fase de fermentación.
5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la polifenoloxidasa se añade antes de la fase de fermentación.
- 15 6. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la proteasa específica de prolina se puede obtener de *Aspergillus* sp. preferiblemente *A. niger*.

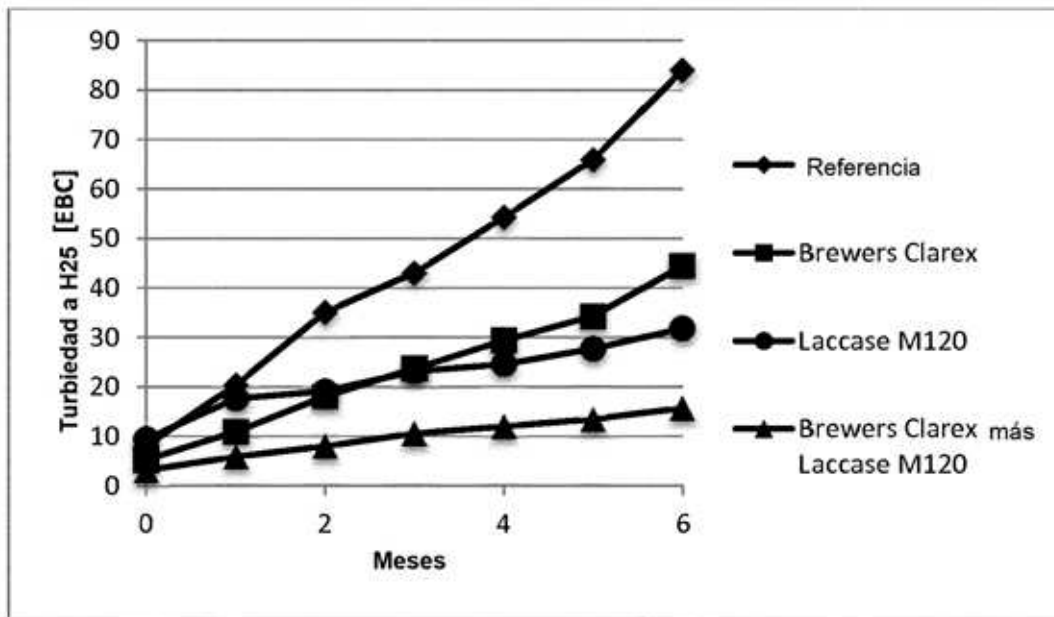


Figura 1

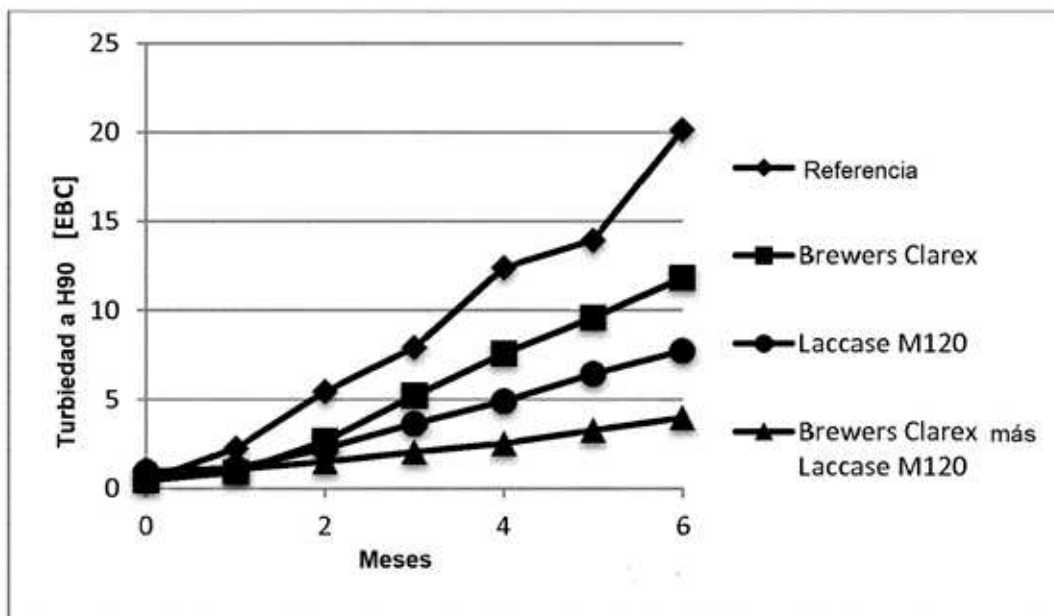


Figura 2

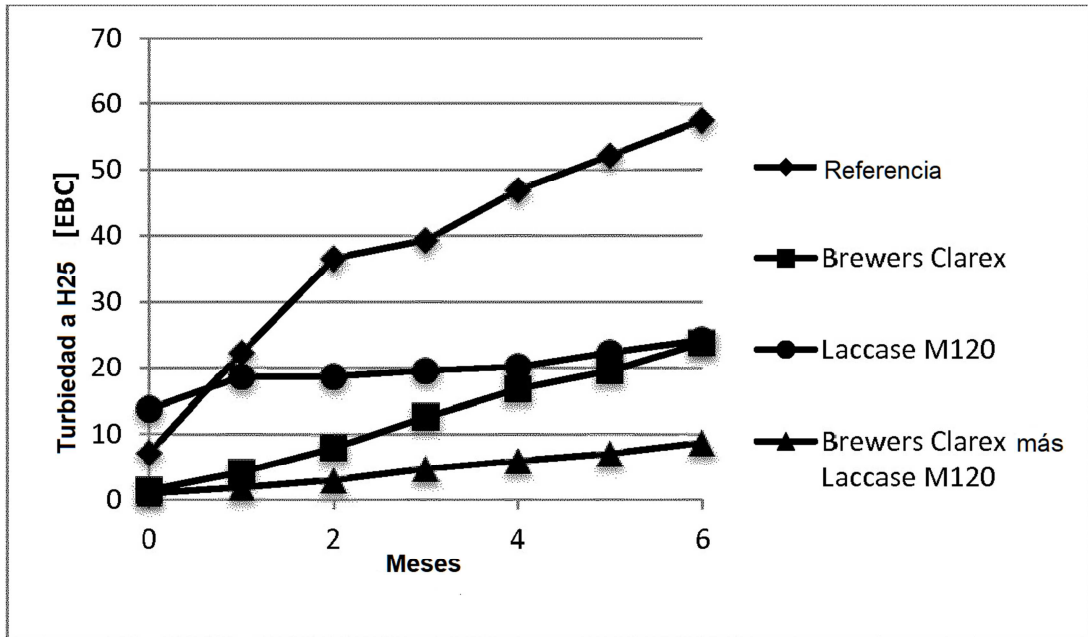


Figura 3

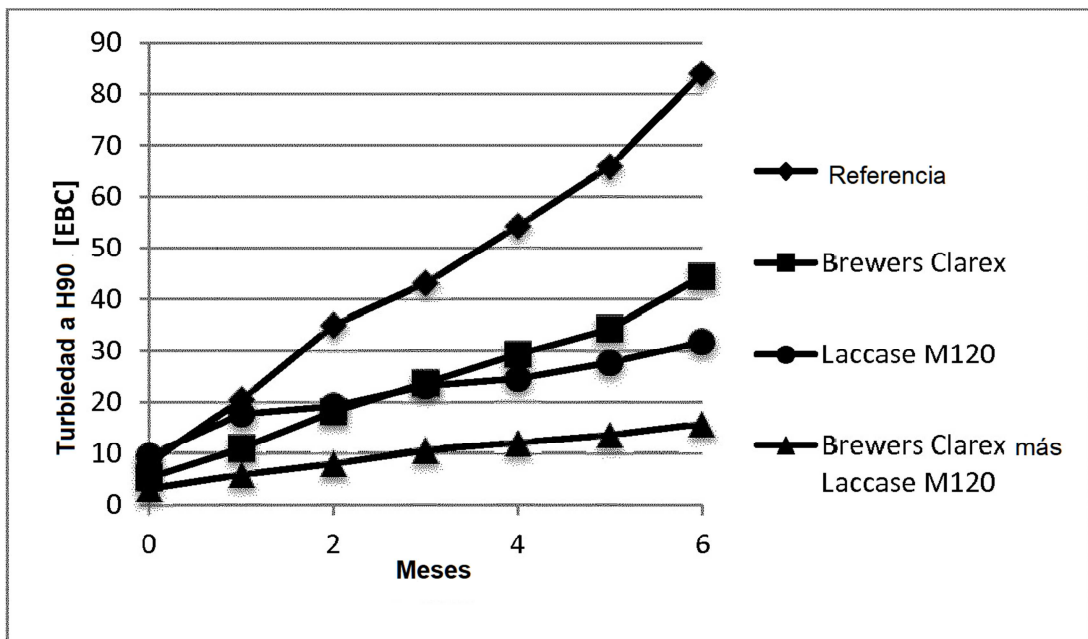


Figura 4