

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 338**

51 Int. Cl.:

A23C 9/137 (2006.01)

A23L 2/38 (2006.01)

A23L 2/62 (2006.01)

A23C 9/154 (2006.01)

A23L 29/231 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2013 PCT/JP2013/068968**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14010669**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2013 E 13816006 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 2878204**

54 Título: **Bebida láctea ácida que contiene pectina y método para su producción**

30 Prioridad:

13.07.2012 JP 2012157098

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

31.03.2020

73 Titular/es:

**KABUSHIKI KAISHA YAKULT HONSHA (50.0%)
1-19, Higashi-Shinbashi 1-chome, Minato-ku
Tokyo 105-8660, JP y
CP KELCO APS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**NAKANO MASATOSHI;
NIHEI DAICHI;
KOBAYASHI YUKIKO;
ROLIN CLAUS;
USHIYAMA SOKO y
MAMIYA HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 751 338 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

Bebida láctea ácida que contiene pectina y método para su producción

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una bebida láctea ácida que tiene una excelente estabilidad de calidad, de modo que no se produce la agregación o precipitación de proteínas lácteas y que tiene un buen gusto, en particular, incluso en los casos donde la bebida tiene una baja concentración de sólidos que no son grasa, así como un método para su producción.

Técnica antecedente

15 Está muy extendida la idea de que las bebidas lácteas ácidas del tipo que contienen microbios vivos, tales como leche fermentada, bebidas con bacterias ácidas lácticas y yogur, constituyen una bebida sana que tiene actividades fisiológicas, como pueda ser un efecto relajante de los trastornos intestinales y una acción inmunopotenciadora.

20 Por otra parte, se han propuesto varios tipos de bebidas lácteas ácidas para responder a las variadas preferencias del consumidor. Entre ellas, se han desarrollado bebidas lácteas ácidas del tipo que contiene una baja concentración de sólidos que no son grasas.

25 Sin embargo, la dispersabilidad de la proteína láctea normalmente pasa a ser inestable en condiciones ácidas y, por lo tanto, en una bebida láctea ácida, existe el problema de que se producen fácilmente la precipitación, la agregación, la separación de suero y similares. Cuando el contenido en sólidos que no son grasas es bajo, las distancias entre las proteínas lácteas son largas y por lo tanto, las fuerzas de repulsión entre las cargas eléctricas son débiles y se producen con facilidad la precipitación o la agregación.

30 La precipitación, agregación o separación de suero mencionadas no solamente deterioran el aspecto de forma significativa, sino que también afectan al gusto al consumirlas y además deterioran el tacto al paladar refrescante. Por consiguiente, se han propuesto métodos de utilización de espesantes estabilizadores para paliar el problema. Específicamente, se ha propuesto el método de utilización de carboximetil celulosa (CMC) (Documentos de Patente 1 y 2).

35 Sin embargo, cuando se utilizó CMC, tal como se ha descrito, no se pudo obtener un producto con una textura refrescante. En particular, dicho producto presentó propiedades de convertirse en gel en una región de pH baja y resultó más difícil obtener un producto con una textura refrescante.

40 La patente estadounidense 6 627 429 B1 divulga una pectina modificada enzimáticamente que puede estabilizar una bebida láctea acidulada.

Listas de citas

Documentos de patente

45 Documento de patente 1: JP-A-59-151837
Documento de patente 2: JP-A-9-266779

Sumario de la invención

50 **Problema técnico**

Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar una bebida láctea ácida que no presenta precipitación, ni agregación ni separación de suero o similares, y que tiene una textura refrescante incluso en los casos donde la bebida láctea ácida tiene una baja concentración de sólidos que no son grasas.

Solución del problema

60 Como resultado de un exhaustivo estudio para conseguir el objeto mencionado, los autores de la presente invención han observado que es posible conseguir dicho objeto incorporando una pectina que tiene ciertas propiedades en la bebida láctea ácida, por lo que han completado la presente invención.

65 Es decir, la presente invención se refiere a una bebida láctea ácida caracterizada por incluir una base de bebida láctea ácida y una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad de calcio de 230 o menos.

La invención se refiere asimismo a un método para producir una bebida láctea ácida, caracterizándose el método

por la inclusión de la agregación de una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80, y una reactividad del calcio de 230 o menos a una base de bebida láctea ácida.

5 Asimismo, la invención se refiere a un método para estabilizar una bebida láctea ácida, caracterizándose el método por la inclusión de la agregación de una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos a una base de bebida láctea ácida.

Efectos ventajosos de la invención

10 La bebida láctea ácida de la invención no presenta precipitación, ni agregación, ni separación de suero, o similares, y tiene una textura refrescante, incluso en los casos donde la bebida láctea ácida tiene una baja concentración de sólidos que no son grasa, siendo adecuados por tanto para el consumo diario.

15 Por otra parte, para esta bebida láctea ácida, el proceso de producción es sencillo y no requiere una inversión para las instalaciones ni similares.

Descripción de realización

20 La bebida láctea ácida de la invención contiene una base de bebida láctea ácida y una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos. En la presente invención, la "bebida láctea ácida" se refiere a un producto final que contiene una base de bebida láctea ácida y la pectina mencionada y ha de distinguirse de la "base de bebida láctea ácida" sin pectina. La base de bebida láctea ácida utilizada en la bebida láctea ácida de la invención no está particularmente limitada, siempre y cuando sea una cualquiera de las leches materia prima ácidas, como tal u obtenida al diluir una cualquiera de ellas con agua o similares. Entre sus ejemplos se incluye aquella que contiene de 3 a 16 % en masa (representada a 25 continuación simplemente por "%") de sólidos que no son grasa y cuyo pH se ajusta a entre 3 y 5.

(1) leche materia prima ácida de tipo microbios vivos, que se obtiene sometiendo una leche líquida derivada de animales o vegetal, como pueda ser leche de vaca, leche de cabra, leche de oveja y leche de soja, leche en polvo desnatada, leche en polvo completa o leche en polvo, una leche reducida a partir de una leche concentrada o similares, a la acción de microbios como bacterias de ácido láctico y bifidobacterias.

(2) leche materia prima ácida del tipo microbios inactivados que se obtiene esterilizando la leche materia prima ácida de (1).

35 (3) leche materia prima ácida, que se obtiene añadiendo simplemente un agente de acidez de diversos tipos a la leche mencionada, o similares.

En la producción de (1) y (2), entre las leches materia prima ácidas mencionadas, entre los ejemplos de microbios, tales como bacterias de ácido láctico y bifidobacterias utilizados para la leche o similares se incluyen, pero sin limitación, bacterias incluyendo bacterias del género *Lactobacillus*, como *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus mali*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*; bacterias del género *Streptococcus* como *Streptococcus thermophilus*; bacterias del género *Lactococcus* como *Lactococcus lactis subsp. lactis* y *Lactococcus lactis subsp. cremoris*; bacterias del género *Enterococcus* como *Enterococcus faecalis*; bacterias del género *Bifidobacterium* como *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium longum*; género *Bacillus*; género *acetobacter*; y género *Gluconobacter*; y levaduras, incluyendo género *Saccharomyces* y género *Candida*. Cualquiera de estos microbios se puede utilizar de forma adecuada. Estos microbios pueden utilizarse en solitario o combinados con dos o más de los mismos. Entre los microbios mencionados, cuando se utiliza al menos uno seleccionado entre *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, y *Streptococcus thermophilus* se proporciona un buen sabor y, por lo tanto, estas bacterias son preferentes.

50 El método de fermentación para someter la leche o similares a la acción de los microbios no está limitada en particular, siempre y cuando sea un método utilizado para la fabricación de productos de bebidas y alimentarios de leche fermentada habitual. Por ejemplo, el método que se utilice puede seleccionarse apropiadamente entre métodos adecuados para la fermentación microbiana, como pueda ser fermentación estática, fermentación agitada, fermentación batida o fermentación aireada y, entre otros, se utiliza preferentemente la fermentación estática.

60 Por otra parte, las condiciones de fermentación para someter leche o similares a la acción de los microbios no están limitadas en particular, siempre y cuando sean las condiciones utilizadas para la fabricación de un producto de bebida o alimentario de leche fermentada habitual. Por ejemplo, se puede llevar a cabo la fermentación a una temperatura de 30 a 40 °C de manera que se mantenga un pH de 3 a 5.

65 Asimismo, en los casos donde se utiliza una leche materia prima ácida (3) como leche materia prima ácida de la bebida láctea ácida, se puede agregar a la leche o similares un agente de acidez entre los diversos tipos que se utilizan para un producto alimentario habitual, por ejemplo, de tal modo que se mantenga el pH a entre 3 y 5. Entre los ejemplos específicos de agente de acidez se incluyen zumo de distintas frutas, como manzana, arándano y cítricos, un estrato de los mismos o una mezcla de los mismos, un ácido orgánico, como ácido láctico, ácido cítrico,

ácido málico, ácido tartárico, ácido glucónico y ácido succínico, un ácido inorgánico, como ácido fosfórico y similares.

5 En la leche materia prima ácida mencionada, los materiales alimentarios que se mezclan normalmente en los diversos productos de bebida y alimentarios se pueden mezclar durante la preparación y después de la preparación de la leche materia prima ácida de diversos tipos, en un grado en el que los efectos obtenidos por la invención no queden perjudicados. Entre los ejemplos de material alimentario se incluyen glúcidos como azúcar, edulcorantes de alta intensidad, como aspartamo, taumatina, sucralosa, acelsulfama K y estevia; fibras dietarias como dextrina resistente a la digestión; emulsionantes como éster de ácido graso de azúcar, un éster de ácido graso de glicerol, un 10 éster de ácido graso de poliglicerol, éster de ácido graso de sorbitano y lecitina; grasas lácteas como crema, mantequilla y nata agria; acidulantes como ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, ácido málico, ácido tartárico y ácido glucónico; vitaminas como vitamina A, sustancias de vitamina B, vitamina C y sustancias de vitamina E; minerales como calcio, magnesio, zinc, hierro y manganeso; aromas como tipo yogur, tipo baya, tipo naranja, tipo de membrillo, de tipo perilla, de tipo cítrico, de tipo manzana, de tipo menta, de tipo pomelo, de tipo albaricoque, de tipo 15 pera, de tipo natilla, melocotón, melón, plátano, de tipo tropical, de tipo hierba, de tipo té negro y aroma de tipo café.

Por otra parte, la pectina utilizada para la bebida láctea ácida de la invención es una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos, preferentemente que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,2, un grado de esterificación de 74 a 77,8 y una 20 reactividad del calcio de 40 a 230, más preferentemente, que tiene una viscosidad intrínseca de 6,5 a 8,2, un grado de esterificación de 75 a 77,8, y una reactividad del calcio de 40 a 110, A este respecto así, la viscosidad intrínseca, el grado de esterificación y la reactividad del calcio de la pectina que se ha descrito se miden a través de los métodos descritos en los Ejemplos. Por otra parte, la pectina utilizada en la bebida láctea ácida de la invención no está limitada en particular siempre y cuando tenga las propiedades que se han descrito. Por ejemplo, puede 25 utilizarse o producirse YM-NN-12 (número de artículo) de CP kelco o similares, del siguiente modo.

Para producir la pectina, en primer lugar, se coloca en un recipiente el material vegetal seco y se añade agua. A continuación, se calienta la mezcla del material vegetal y agua con agitación extrayendo así la pectina de la mezcla. A continuación, se filtra la mezcla que contiene la pectina y se evapora el filtrado con un evaporador para concentrar 30 la pectina en la solución. Finalmente, se añade un alcohol, para hacer precipitar la pectina y se seca el precipitado al vacío con lo cual se obtiene pectina en polvo. Entre los ejemplos de material vegetal como materia prima de la pectina se incluye peladura de un cítrico, caña de azúcar, girasol, una verdura, manzana y cítricos. Entre ellos, es preferente la peladura de un cítrico como lima, limón, pomelo y naranja, y la peladura de limón es particularmente preferente. Las condiciones de extracción de la pectina no están limitadas en particular, pero, por ejemplo, es 35 preferente realizar la extracción a una temperatura de 50 a 90 °C a un pH de 1 a 3 durante un período de tiempo comprendido entre 3 y 12 horas, siendo particularmente preferente realizarlo a una temperatura de 72 a 73°C a un pH de 1,97 a 2,31 durante un período de tiempo comprendido entre 3 y 4 horas.

El contenido de pectina en la bebida láctica ácida de la invención es, pero sin limitarse a él, por ejemplo de 0,2 a 40 0,35 % (p/v), preferentemente de 0,25 a 0,3 % (p/v) sobre la base de la bebida láctea ácida como producto final, teniendo en cuenta el sabor de la bebida láctea ácida.

La bebida láctea ácida de la invención tiene que contener únicamente la base de bebida láctea ácida, tal como se ha descrito, y la pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una 45 reactividad del calcio de 230 o menos y el contenido de sólidos que no son grasa no está particularmente limitado siempre y cuando el valor de pH esté en la región ácida. Desde el punto de vista de la tendencia a producirse agregación o precipitación cuando no se utiliza la pectina, sin embargo, el contenido de sólido que no es grasa de la bebida láctea ácida como producto final puede ser de un 5 % o menos preferentemente de 3 a 4% y el valor de pH inmediatamente después de la producción puede ser de 3 a 5, preferentemente de 3,5 a 4,2. 50

El método de producción de la bebida láctea ácida de la invención no está limitado en particular y puede ser el mismo que el método de producción habitual de una bebida láctea ácida, a excepción de que se agrega la pectina a la base de bebida láctea ácida en cualquier etapa. A este respecto, el método para agregar la pectina no está limitado en particular y puede ser por ejemplo un método en el que se prepara un jarabe que contiene pectina o un 55 glúcido, como azúcar, a través de un método habitual y se agrega dicho jarabe a la base de bebida láctea ácida preparada previamente. Alternativamente, se puede agregar a la base de bebida láctea ácida un jarabe que contiene la pectina, seguido de homogenización.

El jarabe que contiene la pectina y un glúcido, como azúcar, se puede preparar, por ejemplo disolviendo la pectina y 60 el glúcido, como azúcar, en agua antes de calentarlo a aproximadamente 60 °C y sometiendo la solución a esterilización de placa a 112 °C durante 10 segundos.

La bebida láctea ácida de la invención obtenida de este modo no presenta precipitación, ni agregación, ni separación de suero, o similares y tiene una textura refrescante, incluso tras el almacenamiento a 10 °C durante 28 días. 65

Ejemplos

A continuación, se describirá la presente invención en detalle haciendo referencia a los Ejemplos y similares. La invención no queda limitada en absoluto sin embargo con los Ejemplos y similares.

5

Ejemplo 1

Bebida láctea ácida:

10 Se inoculó en un medio de leche en polvo desnatada al 15 % (que contenía 3,5 % de glucosa), un iniciador de *Lactobacillus casei* YIT9029 (esta cepa ha sido depositada a nivel internacional como FERM BP-1366 (con fecha del 1 de mayo de 1981) en el Instituto de Investigación sobre Fermentación, Agencia de Ciencia y Tecnología Industrial, Ministerio de Comercio e Industria Internacional (organización actual: Organismo Depositario de Patentes, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada (NITE-IPOD), dirección: Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, 15 Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8566. Organismo depositario de Patentes Internacionales trasladado a la nueva dirección: Edificio 120, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, el 1 de abril de 2013) a un 0,5 % (recuento de células viables: $5,0 \times 10^6$ /ml) y se cultivó a 37 °C hasta que el pH alcanzó 3,6, con lo cual, se obtuvo una leche materia prima ácida. Se preparó por separado un jarabe (disuelto en agua de modo que tuviera un contenido de 4 % de azúcar, 5 % de dextrina resistente a la digestión y 0,04 % de estevia) que contenía una pectina (número de artículo: YM-NN-12 (CP Kelco), viscosidad intrínseca: 7,2, grado de esterificación: 76, reactividad del calcio: 110, 20 materia prima: peladura de limón. Se sometió una mezcla de 24 partes en peso de la leche materia prima ácida y 76 partes en peso del jarabe a homogeneización a 15 MPa, con lo cual se obtuvo una bebida láctea ácida. En esta bebida láctea ácida, el contenido de sólidos que no eran grasa es 3,1 %, el pH inmediatamente después de la producción es 3,7 y el contenido de pectina es 0,25% (p/v).

25

La bebida láctea ácida resultante no presentó precipitación ni agregación y presentó una menor separación de suero y tenía textura refrescante y un buen gusto, incluso después de su almacenamiento a 10 °C durante 28 días.

Ejemplo de producción 1

30

Preparación de pectina:

Se colocaron piezas secas de peladura de limón en un recipiente y se añadió agua. Se calentó la mezcla de la peladura de cítrico y el agua con agitación, para extraer así la pectina de la mezcla (temperatura: de 72 a 73 °C, pH: 35 1,97 a 2,31, tiempo: 180 minutos). A continuación, se filtró la mezcla extraída. Se evaporó el filtrado con un evaporador para concentrar la pectina en la solución. Se añadió alcohol para provocar la precipitación y se secó el precipitado al vacío para dar la pectina de cada uno de los productos 1 a 12.

40

A este respecto, se midieron la viscosidad intrínseca, el grado de esterificación y la reactividad del calcio de la pectina preparada tal como se describe a continuación. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

<Viscosidad intrínseca>

45 La viscosidad intrínseca es un valor de viscosidad de una solución de polímero en un punto en el que se asume que la concentración del polímero es 0, lo cual se determina obteniendo valores de viscosidad de varias soluciones del polímero que tienen diferentes concentraciones. La medición se llevó a cabo del siguiente modo.

(Aparato)

50 Aparato FIPA: TDA302 (Viscotek)
Bomba: VE1121GPC (Viscotek)
Auto-muestreador y módulo de preparación de muestra: AS3500 (Thermo Separation Products)
Columna: Bio Bases SEC60 (150 x 7,8 mm) (Thermo Separation Products) o Superdex Peptide (60 x 7,8 mm) (GE healthcare)
55 Software informático: OmniSEC

(Reactivo)

60 Hidróxido de litio monohidratado: número de artículo L4533 (Sigma-Aldrich)
Ácido acético glacial: número de artículo 1.00063 (Merck)
Agua Milli Q
Azida sólida: número de artículo 8,22335 (Merck)

65

(Preparación de muestra)

- 5 (1) Se pesa la pectina (40,0 mg) y se coloca en un recipiente de 100 ml.
 (2) Se agrega etanol (100 µl) con agitación.
 (3) Se mantiene la temperatura a 75 °C con agitación.
 (4) Se agrega un disolvente (solución de tampón de acetato de litio 0,3 M (pH 4,6): 40 ml) con agitación suave.
 (5) Se continúa la agitación suave a 75 °C durante 30 minutos.
 (6) Se enfría la mezcla a temperatura ambiente.

10 (Calibración)

Se llevó a cabo la calibración utilizando un dextrano con un peso molecular de aproximadamente 70000 (incremento del índice de refracción intrínseco: dn/dc 0,147) y pululanos con un peso molecular de 212000 (dn/dc 0,145) y de 47000 (dn/dc 0,145).

15 (Control de FIPA)

Como patrón de control, se utilizó un dextrano con un peso molecular de aproximadamente 70000 Dalton (2,0 mg/ml). Como muestra de control, se utilizó una pectina de viscosidad intrínseca conocida (1,0 mg/ml).

(Condiciones de análisis)

- 25 Disolvente: solución de tampón de acetato de litio 0,3 M (pH 4,6)
 Caudal: 1,0 ml/min
 Concentración de pectina: 1,0 mg/ml
 Temperatura: 37 °C
 Cantidad de inyección: utilizando 25 µl de muestra en bucle.

30 <Grado de esterificación>

La pectina contiene ácido poligalacturónico como principal componente y se cambian parcialmente grupos carboxilo del ácido galacturónico por éster metílico. El grado de esterificación presenta la tasa de esterificación. Las medidas se llevaron a cabo de la siguiente manera.

35 (Aparato)

- Balance del análisis
 Vaso de precipitados (250 ml)
 Recipiente de vidrio para medición (100 ml)
 40 Bomba de vacío
 Matraz de succión
 Crisol con filtro de vidrio No. 1 (embudo Buchner y papel de filtro)
 Cronómetro
 Tubo de ensayo
 45 Cabina de secado de 105 °C
 Desecador
 Agitador magnético e imán
 Bureta (10 ml, precisión ± 0,05 ml)
 Pipetas (20 ml, 10 ml)

50 (Reactivo)

- Agua desionizada
 60% y 100 % Isopropanol (IPA)
 55 Cloruro de hidrógeno 0,5 N y 37 % (HCl)
 Hidróxido sódico 0,1 N y 0,5 N (NaOH) (calibrado a 4 décimas)
 Nitrato de plata 0,1 N (AgNO₃)
 Ácido nítrico 3 N (HNO₃)
 Fenol ftaleína 0,1 % (indicador)

60 (Método de medición)

- (1) Se pesa pectina (2,0 g) en un vaso de precipitados de 250 ml.
 (2) Se agrega alcohol ácido (100 ml) y se agita la mezcla utilizando un agitador magnético durante 10 minutos.
 65 (3) Se seca completamente el filtrado y se pesa un crisol con filtro de vidrio.
 (4) Se aclara el vaso de precipitados con 15 ml de alcohol ácido y se repite esta operación 6 veces.

(5) Se repite el lavado con 60 % de IPA hasta que el filtrado queda desprovisto de cloruro (aproximadamente 500 ml).

(6) Se lleva a cabo la prueba de cloruro colocando aproximadamente 10 ml del filtrado en un tubo de ensayo, agregando aproximadamente 3 ml de HNO₃ 3N y agregando además de 2 a 3 gotas de AgNO₃.

5 (7) Después de aclarar la solución, el filtrado no contiene cloruro y, de lo contrario, precipita cloruro de plata.

(8) A continuación, se lleva a cabo el lavado con 20 ml de 100 % IPA.

(9) Se seca la muestra a 105 °C durante 2 horas y media.

(10) Después del secado, se pesa el crisol y se enfría en un desecador.

10 (11) Se pesa con precisión la muestra (0,40 g) en un vaso de precipitados de vidrio de 250 ml (se pesan dos muestras para una doble medición).

(12) Se sumerge la pectina en aproximadamente 2 ml de IPA al 100 % y se agregan aproximadamente 100 ml de agua destilada que no contiene agua desionizada con agitación con un agitador magnético.

(13) Se agrega indicador de fenol ftaleína (5 gotas) y se titula la mezcla con NaOH 0,1 N hasta que cambia el color (el volumen de titulación se registra como volumen de titulación V1).

15 (14) Mientras se agita, se añade NaOH 0,5 N (20,00 ml) y se deja reposar la solución durante 15 minutos. Durante el reposo todavía, se debe cubrir la muestra con papel metalizado.

(15) A continuación, se agrega HCl 0,5 N (20,00 ml) y se agita la solución con un agitador magnético hasta que desaparece el color.

20 (16) Se agrega Fenol ftaleína (3 gotas) y se titula la solución con NaOH 0,1 N hasta que cambia el color (se registra el volumen de titulación como volumen de titulación V2).

(17) A continuación, se realiza una prueba con ocultación (doble medición) del siguiente modo,

25 (18) Se agrega fenol ftaleína (3 gotas) a 100 ml de agua desionizada y se titula la solución con NaOH 0,1 N en un vaso de precipitados de 250 ml hasta que se producen cambios de color (1 a 2 gotas) y, a continuación, se agrega NaOH 0,5 N (20,00 ml) y se deja en reposo la solución durante 15 minutos sin tocar la muestra. Durante el reposo todavía, la muestra debe estar cubierta con papel metalizado.

(19) A continuación, se agregan HCl 0,5 N HCl (20,00 ml) y fenol ftaleína (3 gotas) y se titula la mezcla con NaOH 0,1 N hasta que se producen cambios de color. El volumen de NaOH 0,1 N se registra como B1.

(Expresión)

30 Se calcula el grado de esterificación con la siguiente expresión.

[Expresión 1]

35
$$\text{Grado de esterificación (\%)} = (V2 - B1) \times 1000/V1$$

<Reactividad del calcio>

40 La pectina reacciona con iones de calcio y se agrega (debido a que las cargas negativas de las moléculas de pectina reaccionan con las cargas positivas de los iones de calcio). La reactividad del calcio en la invención se expresa mediante un valor de viscosidad de una solución de pectina medido en un determinado período después de agregar una cantidad de calcio a una cantidad de la solución de pectina. Las medidas se llevan a cabo del siguiente modo.

(Método de medición)

45 (1) Se pesa una pectina que no está normalizada (0,64 g) en un recipiente de vidrio (la normalización significa que se mezclan glucosa o sacarosa en la pectina para conseguir una concentración de gel de la pectina en cierto valor).

(2) Se agrega isopropanol (5,0 ml).

50 (3) Se agita la mezcla y se mezcla al mismo tiempo que se agrega agua en ebullición (130 ml). Se cubre el recipiente de vidrio con una tapa durante todas las operaciones de (3) a (5).

(4) Un minuto después de la adición de agua en ebullición en (3), se agrega solución de tampón de acetato de sodio 3,0 M (pH 3,60).

55 (5) Un minuto después de la adición de la solución de tampón, se coloca el recipiente de vidrio en agua caliente a 75 °C, se mezcla la mezcla durante 8 a 12 horas para confirmar que se ha disuelto la pectina.

(6) Se agita la solución en el recipiente de vidrio con una mezcladora con vórtice, se agrega una solución de cloruro de calcio (5 ml) en 2 segundos y se mezcla la mezcla durante 10 segundos.

60 (7) Se coloca el recipiente de vidrio en un tanque de agua de 5 °C en 5 minutos tras el mezclado de (6) y se deja en reposo durante 16 a 22 horas. La altura de la superficie de agua del tanque y la de la superficie de agua en el recipiente de vidrio tienen que ser iguales.

(8) Se mide la viscosidad a 5 °C utilizando un viscosímetro de Brookfield (Brookfield LVT) con un huso de No.2 a 60 rpm.

(9) La viscosidad medida en (8) (CP) se toma con el valor de la reactividad del calcio.

65

[Tabla 1]

	Viscosidad intrínseca (dl/g)	Grado de esterificación (%)	Reactividad del calcio (cp)
Producto 1	7,6	75,8	54
Producto 2	6,2	74,6	40
Producto 3	4,5	72,1	25
Producto 4	5,0	73,2	163
Producto 5	5,9	74,0	44,5
Producto 6	6,8	74,0	594
Producto 7	7,8	76,5	104
Producto 8	8,2	76,5	91
Producto 9	8,0	77,8	55
Producto 10	7,2	75,7	43
Producto 11	7,5	76,5	229
Producto 12	7,4	75,8	177

Ejemplo 2

5 Preparación de bebida láctea ácida:

Se inoculó un iniciador de *Lactobacillus casei* YIT9029 (FERM BP-1366) en un medio de leche en polvo desnatada al 15 % (que contenía 3,5 % de glucosa) en un 0,5 % (recuento de células viables: $5,0 \times 10^6$ /ml) y se cultivó a 37 °C hasta que el pH alcanzó 3,6, con lo cual se obtuvo la leche materia prima ácida. A continuación, se preparó por separado un jarabe que contenía cada una de las pectinas de los productos 1 a 12 (el jarabe que contenía 7 % de azúcar). Se sometió una mezcla de 24 partes en peso de la leche materia prima ácida y 76 partes en peso del jarabe a homogeneización a 15 MPa, con lo cual se obtuvo una bebida láctea ácida. En cada una de las bebidas lácteas ácidas, el contenido de sólidos que no eran grasa fue 3,2 %, el valor de pH inmediatamente después de la producción fue 3,8 y el contenido de pectina fue 0,25 % (p/v). Como control, se obtuvo una bebida láctea ácida similar, utilizando una pectina convencional (CP Kelco, viscosidad intrínseca: 5,7, grado de esterificación: 72, reactividad del calcio: 169) y un polisacárido de soja en lugar de una pectina (San-Ei Gen F.F.I., Inc.), respectivamente.

Se almacenaron estas bebidas lácteas ácidas a 10 °C durante 28 días y a continuación, se determinaron la cantidad de separación de suero (la altura del suero desde la parte superior del recipiente (mm) y la cantidad de precipitación ((el peso de la precipitación en el fondo del recipiente)/ (el peso total del contenido) x 100 (%)). Por otra parte, se evaluaron globalmente la separación de suero y la precipitación con los siguientes criterios de evaluación. En la Tabla 2 se muestran los resultados.

25 <Criterios de evaluación de las propiedades físicas>

(Evaluación) (Detalle)

Buenas: presentan una buena estabilidad de las propiedades físicas (tiene un valor comercial).

30 Moderadas: ni buenas ni deficientes

Deficientes: presentan una escasa estabilidad de las propiedades físicas (no tienen un valor comercial).

[Tabla 2]

	Separación de suero (mm)	Cantidad de precipitación (%)	Evaluación de propiedades físicas
Producto 1	9	1,0	Buenas
Producto 2	11	1,2	Buenas
Producto 3	Agregado o separado	Agregado o separado	Deficientes
Producto 4	Agregado a separado	Agregado a separado	Deficientes
Producto 5	14	1,6	Moderadas
Producto 6	Agregado o separado	Agregado o separado	Deficientes
Producto 7	7	1,0	Buenas
Producto 8	6	1,0	Buenas
Producto 9	6	0,9	Buenas
Producto 10	10	1,2	Buenas
Producto 11	10	1,0	Buenas
Producto 12	9	1,0	Buenas
Pectina convencional	Agregado o separado	Agregado o separado	Deficientes
Polisacárido de soja	17	1,2	-

Tal como se puede deducir de los resultados de la Tabla 2, se observó que los productos 1, 2, 5 y 7 a 12, presentaron una buena estabilidad de las propiedades físicas y no se perjudicó su valor comercial ni siquiera después del almacenamiento del producto.

5 Ejemplo 3

Preparación de bebidas lácteas ácidas.

10 Se inoculó un iniciador de *Lactobacillus casei* YIT9029 en un medio de leche en polvo 15 % (que contenía 3,5 % de glucosa) en un 0,5 % (recuento de células viables: $5,0 \times 10^6$ /ml) y se cultivó a 37 °C hasta que el pH alcanzó 3,6, con lo cual se obtuvo la leche materia prima ácida. A continuación, se prepararon por separado varios jarabes que contenían diferentes concentraciones de pectina del Producto 1, del Ejemplo de Producción 1 (el jarabe que contenía 7 % de jarabe). Se sometió a homogeneización una mezcla de 24 partes en peso de la leche materia prima ácida y 76 partes en peso de cada uno de los jarabes a 15 MPa, con lo cual se obtuvo una bebida láctea ácida. En cada una de las bebidas lácteas ácidas, el contenido de sólidos que no eran grasas fue 3,2 %, el valor de pH inmediatamente después de la producción fue 3,8 y el contenido de pectina fue 0, 0,25 o 0,35 % (p/v).

20 Se almacenaron estas bebidas lácteas ácidas a 10 °C durante 14 días o 28 días y, a continuación, se determinó la cantidad de la separación de suero y la cantidad de precipitación de la misma manera que el ejemplo 2. Por otra parte, se evaluaron la estabilidad de las propiedades físicas con los siguientes criterios de valoración. En la Tabla 3 se muestran los resultados.

<Criterios de evaluación del sabor>

25 (Evaluación) (Detalle)

Bueno: que tiene buen sabor.
Moderado: ni bueno ni malo
Malo: que tiene mal sabor.

30

<Criterios de evaluación de las propiedades físicas >

(Evaluación) (Detalle)

35 Bueno: presenta una buena estabilidad de las propiedades físicas (tiene valor comercial).
Moderado: ni bueno ni deficiente
Deficiente: presenta una estabilidad deficiente de las propiedades físicas (no tiene valor comercial).

[Tabla 3]

	Periodo de almacenamiento (días)	Cantidad de pectina agregada			
		0 %	0,25 %	0,30 %	0,35 %
Separación de suero (mm)	14	7,0	5,0	4,0	4,0
	28	18,0	9,0	6,0	5,5
Precipitación (%)	14	0,99	0,84	0,81	0,80
	28	0,94	0,90	0,85	0,83
Gusto		Bueno	Bueno	Bueno	Bueno a moderado
Propiedades físicas		Deficientes	Buenas	Buenas	Buenas

40

Se puede deducir de los resultados de la Tabla 3 que la estabilidad de las propiedades físicas fue buena cuando la cantidad de pectina agregada fue de 0,25 a 0,35 %. En cuanto al sabor, si bien la textura tendió a ser más pesada a medida que se aumentaba la cantidad de pectina agregada, el sabor permaneció dentro del intervalo tolerable en una cantidad de hasta 0,35 %.

45

Susceptibilidad de aplicación industrial

La bebida láctea ácida de la invención no presenta precipitación ni agregación y presenta una menor separación de suero, y tiene una textura refrescante, por lo cual es adecuada para su consumo diario.

50

REIVINDICACIONES

1. Una bebida láctea ácida, que comprende una base de bebida láctea ácida y una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos.
5
2. La bebida láctea ácida de acuerdo con la reivindicación 1, donde la bebida tiene un pH de 3,5 a 4,2.
3. La bebida láctea ácida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde la bebida tiene un contenido de sólidos que no son grasa de 3 a 4 % en masa.
10
4. La bebida láctea ácida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos está contenida en una cantidad de 0,25 a 0,3% (p/v).
- 15 5. Un método para producir una bebida láctea ácida, comprendiendo el método la adición de una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos a una base de bebida láctea ácida.
- 20 6. Un método para estabilizar una bebida láctea ácida, comprendiendo el método la adición de una pectina que tiene una viscosidad intrínseca de 5,9 a 8,5, un grado de esterificación de 74 a 80 y una reactividad del calcio de 230 o menos a una base de bebida láctea ácida.