



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 784 506

51 Int. Cl.:

**A23C 9/12** (2006.01) **A23C 9/127** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

**T3** 

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 24.12.2015 PCT/IB2015/002576

(87) Fecha y número de publicación internacional: 29.06.2017 WO17109532

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 24.12.2015 E 15837136 (9)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 15.01.2020 EP 3393257

54 Título: Utilización de una lactasa para mejorar la preparación de un producto lácteo fermentado colado

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 28.09.2020

(73) Titular/es:

COMPAGNIE GERVAIS DANONE (50.0%) 17, Boulevard Haussmann 75009 Paris, FR y DANONE, S.A. (50.0%)

(72) Inventor/es:

BILBAO CALABUIG, MARIA ALMUDENA; MARCHAL, LAURENT y FLABBI, PAOLA

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.** 

#### **DESCRIPCIÓN**

Utilización de una lactasa para mejorar la preparación de un producto lácteo fermentado colado.

- La presente invención se refiere a un método para fabricar un producto lácteo fermentado colado y a la utilización de lactasa para evitar la obstrucción del dispositivo de separación utilizado en la preparación de un producto lácteo fermentado colado.
- Los productos lácteos fermentados son reconocidos por el consumidor como alimentos saludables con beneficios nutricionales. Entre dichos productos lácteos fermentados, los productos lácteos fermentados colados presentan el interés de contener niveles más elevados de proteínas que los productos lácteos fermentados convencionales, lo que representa un beneficio nutricional adicional.
- Dichos productos lácteos fermentados colados se preparan generalmente mediante el mismo método que los productos lácteos fermentados convencionales, con una etapa adicional que consiste en la separación de una fase líquida asimismo denominada suero de leche (que contiene generalmente agua, lactosa, minerales, etc.) de los productos lácteos fermentados convencionales. La fase sólida remanente constituye los productos lácteos fermentados colados deseados que presentan un contenido incrementado de proteínas. Dichos procedimientos se dan a conocer particularmente en los documentos WO2015/193449, WO 2014/114970 o WO 2014/169171.
  - La etapa de separación puede llevarse a cabo especialmente mediante centrifugación. Sin embargo, debido a la formación de un producto lácteo más espeso (fase sólida) durante dicha etapa, pueden producirse problemas de obstrucción del dispositivo de separación tras sólo unas cuantas horas de funcionamiento de la línea de producción.
- De esta manera, existe una necesidad de un método mejorado para fabricar productos lácteos fermentados colados, evitando la obstrucción del dispositivo de separación.
  - Los inventores de la presente invención inesperadamente han descubierto que dicho problema de obstrucción podría resolverse mediante la adición de una lactasa durante la etapa de fermentación.
  - De esta manera, la presente invención se refiere a un método para fabricar un producto lácteo fermentado colado que comprende las etapas sucesivas siguientes:
    - (a) proporcionar un producto lácteo,
    - (b) añadir una lactasa y un cultivo de bacterias que comprende por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico termófilas y por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas y fermentar el producto lácteo a fin de obtener un producto lácteo fermentado, y
- 40 (c) separar un suero de leche líquido a partir del producto lácteo fermentado a fin de obtener un producto lácteo fermentado colado, en el que la lactasa se añade antes del cultivo de las bacterias.

#### Producto lácteo:

30

35

50

- 45 En el contexto de la presente invención, "producto lácteo" se refiere más particularmente a un producto lácteo listo para el consumo humano preparado a partir de leche de origen animal o vegetal.
  - El producto lácteo a base de leche de origen animal puede prepararse a partir de leche y componentes de la leche originados en una vaca, cabra, oveja, búfalo, burro o camello, preferentemente de origen en la vaca.
  - El producto lácteo a base de leche de origen vegetal puede prepararse a partir de leche de cereal, tal como leche de cebada, leche de avena, leche de arroz o leche de espelta; leche a base de legumbre, tal como leche de altramuz, leche de guisante, leche de cacahuete o leche de soja; leche de fruto seco, tal como leche de almendra, leche de anacardo, leche de avellana o leche de nuez; o leche de semilla, tal como leche de cáñamo, leche de quinoa, leche de semilla de sésamo, leche de semilla de girasol o leche de coco. De esta manera, contiene proteínas vegetales. Preferentemente, el producto lácteo a base de leche de origen vegetal puede prepararse a partir de leche de soja, leche de avena, leche de arroz o leche de almendra.
- Preferentemente, el producto lácteo se prepara a partir de leche y componentes de la leche de origen animal, y en particular de origen en la vaca.

Asimismo pueden encontrarse presentes aditivos alimentarios en el producto lácteo, especialmente seleccionados de entre:

azúcares y edulcorantes:

5

los azúcares y edulcorantes con agentes edulcorantes carbohidratos aceptables en alimentos que pueden ser edulcorantes naturales o artificiales bajos en calorías o sin calorías,

10

son ejemplos preferidos de azúcares apropiados, sacarosa, fructosa, lactosa, glucosa y maltosa, en los que dichos azúcares pueden incorporarse en la forma de azúcar de remolacha,

15

azúcar de caña, azúcar de arce, melaza, jarabe de maíz, jarabe de malta, jarabe de arce, néctar de ágave o asimismo miel,

son ejemplos preferidos de edulcorantes bajos en calorías o sin calorías apropiados, aspartamo, sucralosa, acesulfamo potasio, sacarina, ciclamato sódico, taumatina, tagatosa, dihidrochalcona de neohesperidina o isomaltulosa,

vitaminas (por ejemplo, vitamina A, B1, B2, B6, B12, C, D, E o K, ácido fólico, etc.),

20

- sales (por ejemplo, cloruro sódico),
- antioxidantes,

25

- agentes modificadores del pH (por ejemplo, agentes tamponadores o agentes acidificantes, tales como ácido cítrico y sus sales, por ejemplo citrato sódico, potásico o cálcico),
- lubricantes (por ejemplo, aceites vegetales),

30

conservantes (por ejemplo, ácido sórbico y sus sales, tales como sales de sodio, potasio y calcio, dióxido de azufre, ácido benzoico y sus sales, tales como sales de sodio, potasio y calcio, p-hidroxibenzoato de etilo, metilo o propilo, etc.),

35

- potenciadores del sabor (por ejemplo, ácido glutámico y sus sales, tales como sales de sodio, potasio, calcio, magnesio o amonio),
- agentes texturizantes:

40

los agentes texturizantes se utilizan para modificar la textura global o sensación en boca de un producto alimentario y entre ellos se incluyen agentes gelificantes (por ejemplo, gelatina, agar, carragenano, pectina, gomas naturales), estabilizantes (por ejemplo, almidón, agar, pectina, goma arábiga, gelatina), emulsionantes (por ejemplo, lecitina, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos (E471), ésteres de monoglicéridos y diglicéridos (E472a-f), y espesantes (por ejemplo, goma guar, goma xantana, pectina, almidón, agar, carragenano y ácido algínico),

45

- agentes aromáticos saborizantes de origen sintético o natural (por ejemplo, sabores de frutas),
- agentes colorantes (pigmentos, tintes, etc.) y

50

Ingredientes vegetales (tales como frutas y trozos de frutas).

En caso necesario, el experto en la materia podrá seleccionar aditivos alimentarios apropiados de entre todos los aditivos alimentarios bien conocidos disponibles en el mercado. Estos aditivos alimentarios pueden añadirse en diferentes etapas del método de fabricación del producto lácteo fermentado colado.

55

#### Producto lácteo fermentado colado:

El producto lácteo producido mediante el método según la presente invención es un producto lácteo fermentado colado.

60

En el contexto de la presente invención, "producto lácteo fermentado colado" se refiere más particularmente a un producto lácteo fermentado colado listo para el consumo humano, tal como una leche fermentada tamizada, tal como skyr, yogur griego o un yogur colado "asimismo denominado yogur concentrado, yogur de estilo griego o labneh".

Las expresiones "leche fermentada" y "yogur" se proporcionan con sus significados habituales en el campo de la industria láctea, es decir, productos destinados al consumo humano y que se originan a partir de la fermentación láctica acidificante de un sustrato lácteo, con un origen animal o vegetal, preferentemente un origen animal.

5

La expresión "leche fermentada", de esta manera, se refiere en la presente solicitud a un producto lácteo preparado con un sustrato de leche que ha sido sometido a tratamiento por lo menos equivalente a la pasteurización, se ha sembrado con microorganismos pertenecientes a la especie o especies características de cada producto.

10

El término "yogur" se reserva a leche fermentada obtenida, según el uso local y constante, mediante el desarrollo de bacterias lácticas termófilas específicas conocidas como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, que deben encontrarse vivas en el producto acabado, a una tasa mínima. En determinados países, la normativa requiere la adición de otras bacterias de ácido láctico a la producción de yogur, y especialmente la utilización adicional de cepas de *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus acidophilus* y/o *Lactobacillus casei*. Estas cepas adicionales de bacterias de ácido láctico están destinadas a proporcionar diversas propiedades al producto acabado, tales como favorecer el equilibrio de la flora intestinal o modular el sistema inmunitario.

20

15

Por lo tanto, en la práctica, la expresión "leche fermentada" se utiliza generalmente para designar leches fermentadas aparte de yogures.

El término "colado" referido a producto lácteo se refiere a un producto lácteo obtenido mediante una etapa de separación en la que se separa un suero de leche líquido con respecto de una fase sólida (el producto lácteo colado), tal como en la etapa (c) del método según la invención.

25

Preferentemente, el producto lácteo fermentado colado no será un queso.

30

El producto lácteo fermentado colado que se obtiene mediante el método según la invención puede presentar un contenido de proteínas totales comprendido entre 6% y 16%, especialmente entre 7% y 12%, tal como entre 8% y 10%.

50

El "contenido de proteínas totales" de un producto lácteo corresponde al peso de las proteínas presentes en el producto lácteo respecto al peso total del producto lácteo. El contenido de proteínas totales se expresa como un porcentaje en peso.

35

El contenido de proteínas totales puede medirse mediante análisis de Kjeldahl (NF EN ISO 8968-1) como el método de referencia para la determinación del contenido de proteínas totales de los productos lácteos basado en la medición del contenido de nitrógeno total. El método se describe tanto en el método de AOAC nº 991.20 (1) como en la norma de la Dairy Federation Standard (IDF) nº 20B:1993.

40

El producto lácteo fermentado colado que se obtiene mediante el método según la invención puede presentar un contenido de grasas totales comprendido entre 0% y 6%, especialmente entre 1% y 5%, tal como entre 2% y 3%.

45

El "contenido de grasas" de un producto lácteo corresponde al peso de los componentes grasas presentes en el producto lácteo respecto al peso total del producto lácteo. El contenido de grasas se expresa como un porcentaje en peso.

El contenido de grasas puede medirse mediante el método gravimétrico de Weibull-Berntrop descrito en la norma nº NF ISO 8262-3.

50

El producto lácteo fermentado colado que se utiliza en el método según la presente invención es un producto lácteo altamente texturizado, es decir, un producto lácteo espeso con una viscosidad comprendida entre 15000 y 5000 mPa·s, particularmente entre 3000 y 4000 mPa·s, ventajosamente entre 3300 y 3700 mPa·s.

55

La viscosidad se mide a las 24 h (es decir, 24 h después de la producción del producto) con un viscosímetro, más particularmente de tipo Rheomat, dotado de un rotor de medición/sistema de tubo medidor de tipo 2/2 con una tasa de cizalla de 64 s<sup>-1</sup> durante 90 s a 10°C. El viscosímetro puede ser, por ejemplo, un Rheomat RM200. El rotor medidor/sistema de tubo medidor de tipo 2-2 es un sistema en el que el rotor medidor es de tipo 2 y presenta un diámetro de 24 mm y el tubo medidor es de tipo 2 y presenta un diámetro de 26.03 mm.

60

La viscosidad del producto lácteo es la viscosidad medida tras 24 h de almacenamiento en frío a una temperatura de 2°C a 6°C después del final de la etapa (c). En efecto, dicha viscosidad puede cambiar durante la vida en almacenamiento del producto. En particular, la viscosidad de un producto lácteo fermentado se incrementa durante su vida en almacenamiento.

#### Etapa (a) - proporcionar un producto lácteo

5

15

35

40

45

50

55

60

65

El producto lácteo utilizado como material de partida para preparar el producto lácteo fermentado colado según la invención es un producto lácteo no fermentado, asimismo denominado mezcla láctea o material de partida lácteo, que contiene leche y componentes de la leche de origen animal o vegetal, y opcionalmente otros aditivos alimentarios, tales como los indicados anteriormente. El producto lácteo de esta manera se obtiene mediante la mezcla de sus diversos ingredientes.

La leche y componentes lácteos de origen animal pueden ser leche entera y/o leche total o parcialmente desnatada, que puede utilizarse en una forma de polvos, concentrado o retenido que puede reconstituirse mediante la adición de agua. Pueden añadirse otros componentes lácteos, tales como nata, caseína, caseinato (por ejemplo, caseinato de calcio o sodio), proteínas del suero de leche, especialmente en forma de un concentrado (WPC), proteínas lácteas especialmente en forma de un concentrado (MPC), hidrolizados de proteínas lácteas y mezclas de los mismos.

La leche y componentes de la leche de origen animal pueden estar originados en la vaca, cabra, oveja, búfalo, burro o camello, preferentemente son de origen en la vaca.

La leche y componentes de la leche de origen vegetal pueden prepararse a partir de leche de cereal, tal como leche de cebada, leche de avena, leche de arroz o leche de espelta; leche a base de legumbre, tal como leche de altramuz, leche de guisante, leche de cacahuete o leche de soja; leche de fruto seco, tal como leche de almendra, leche de anacardo, leche de avellana o leche de nuez; o leche de semilla, tal como leche de cáñamo, leche de quinoa, leche de semilla de girasol o leche de coco. De esta manera, contiene proteínas vegetales. Preferentemente, el producto lácteo a base de leche de origen vegetal puede prepararse a partir de leche de soja, leche de avena, leche de arroz o leche de almendra.

Preferentemente, el producto lácteo se prepara a partir de leche y componentes de la leche de origen animal, y en particular de origen en la vaca.

30 El producto lácteo proporcionado en la etapa (a) puede presentar un contenido de proteínas totales comprendido entre 2.8% y 4,6%, especialmente de entre 3.1% y 4.0%, tal como de entre 3.2% y 3.6%.

El producto lácteo proporcionado en la etapa (a) puede presentar un contenido de grasas totales comprendido entre 0% y 2.0%, especialmente de entre 0.05% y 1.0%, tal como entre 0.1% y 0.3%.

Preferentemente, el producto lácteo proporcionado en la etapa a) es un producto lácteo tratado térmicamente.

El tratamiento térmico del producto lácteo asimismo se denomina pasteurización. Está destinado a matar los microorganismos, incluyendo los microorganismos patogénicos, en el producto lácteo a fin de conservar la calidad y las propiedades organolépticas del producto final y evitar que el consumidor resulte infectado por microorganismos patógenos presentes en el producto lácteo y desarrolle enfermedades.

El tratamiento térmico comúnmente se lleva a cabo a una temperatura (temperatura de tratamiento térmico) comprendida entre 72°C y 140°C, preferentemente durante 2 segundos a 30 minutos.

El tratamiento térmico asimismo puede llevarse a cabo en varias etapas, especialmente en dos etapas, en las que el producto lácteo se calienta a diferentes temperaturas en cada etapa. Por ejemplo, el tratamiento térmico puede llevarse a cabo según las dos etapas sucesivas siguientes:

- (1) una primera etapa de pretratamiento térmico llevada a cabo a una temperatura comprendida entre 55°C y 95°C, especialmente hasta alcanzar una temperatura de entre 55°C y 95°C,
- (2) una segunda etapa de tratamiento térmico llevada a cabo a una temperatura comprendida entre 90°C y 95°C, especialmente durante 2 a 7 min.

Ventajosamente, se lleva a cabo una etapa de homogeneización entre las 2 etapas de calentamiento, especialmente a una presión comprendida entre 20 y 300 bar (20-300·10<sup>5</sup> Pa), especialmente entre 50 y 250 bar (50-250·10<sup>5</sup> Pa). Dicha etapa de homogeneización se lleva a cabo más particularmente a una temperatura de entre 55°C y 95°C.

Etapa (b) - Adición de lactasa y un cultivo de bacterias y fermentación

Se añade lactasa y un cultivo de bacterias al producto lácteo, en particular a un producto lácteo que ha sido tratado térmicamente. El producto lácteo se fermenta en particular a una temperatura (temperatura de fermentación) de entre 25°C y 44°C, especialmente de entre 30°C y 40°C. La fermentación se lleva a cabo en particular durante 3 a 25 horas, preferentemente durante 5 a 15 horas.

La lactasa y el cultivo de bacterias no pueden añadirse al producto lácteo a una temperatura excesivamente elevada y generalmente se añaden a la temperatura de fermentación. En consecuencia, una vez el producto lácteo ha sido tratado térmicamente, resulta necesario enfriar el producto lácteo tratado térmicamente obtenido al final de la etapa de tratamiento térmico hasta la temperatura de fermentación antes de inocular la lactasa y el cultivo de bacterias y llevar a cabo la etapa de fermentación.

La etapa de fermentación es comúnmente una fermentación láctica que implica técnicas bien conocidas por el experto en la materia.

10

5

En el caso de que se haga referencia a una "fermentación láctica", ello se refiere a una fermentación láctica acidificante que resulta en la coagulación y acidificación de la leche tras la producción de ácido láctico, que puede acompañarse de la producción de otros ácidos, dióxido de carbono y diversas sustancias, tales como exopolisacáridos (EPS) o sustancias aromáticas, por ejemplo diacetilo y acetaldehído.

15

Pueden utilizarse diversas bacterias para llevar a cabo la fermentación del producto lácteo y en particular bacterias de ácido láctico, tales como:

20

Lactobacillus sp. (por ejemplo, Lactobacillus bulgaricus, y especialmente Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus casei, Lactobacillus pentosus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bifidus y combinaciones de las mismas),

25

• Lactococcus sp. (por ejemplo, Lactococcus lactis y especialmente Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris y combinaciones de las mismas),

 Bifidobacterium sp. (por ejemplo, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium animalis y especialmente Bifidobacterium animalis subsp. lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum y combinaciones de las misma),

30

• Streptococcus sp. (por ejemplo Streptococcus thermophilus, Streptococcus lactis, Streptococcus raffinolactis, Streptococcus cremoris y combinaciones de los mismos) y combinaciones de las mismas.

35

Las bacterias de ácido láctico preferidas que deben utilizarse en la presente invención se seleccionan de Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis, Bifidobacterium animalis subsp. Lactis, y combinaciones de las mismas.

Las bacterias de ácido láctico más preferidas que deben utilizarse en la presente invención se seleccionan de:

40

- Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus, depositada con el número nº CNCM I-1632 o Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, depositada con el número nº CNCM I-1519,
- Streptococcus thermophilus, depositada con el número nº CNCM-1630,

45

- Lactococcus lactis subsp. lactis, depositada con el número nº CNCM-1631,
- Bifidobacterium animalis subsp. lactis, depositada con el número nº CNCM-2494,

50 c

y combinaciones de los mismos. Las bacterias de ácido láctico anteriormente indicadas se han depositado conforme al Tratado de Budapest en la Collection Nationale de Cultures de Micro-organismes (CNCM) situado en la sede central del Instituto Pasteur (25 rue du Docteur Roux 75724 PARIS Cedex 15 Francia).

En el contexto de la presente invención, el cultivo de bacterias comprende:

55

- por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas, tales como Lactococcus sp., y
- por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico termófilas, tales como *Streptococcus sp., Lactobacillus sp.* y/o *Bifidobacterium* sp., y especialmente *Bifidobacterium* sp.

60

La expresión "bacterias de ácido láctico mesófilas" se refiere, en la presente invención, bacterias de ácido láctico que crecen mejor a temperatura moderada, típicamente entre 20°C y 30°C. Las bacterias de ácido láctico mesófilas pueden ser, en particular, *Lactococcus* sp., tal como se ha definido anteriormente, y todavía más particularmente, *Lactococcus* lactis subsp. *lactis*.

Las "bacterias de ácido láctico termófilas" se refiere, en la presente invención, a bacterias de ácido láctico que crecen mejor a temperatura relativamente elevada, típicamente superior a 35°C, especialmente de entre 38°C y 44°C. Las bacterias de ácido láctico termófilas pueden seleccionarse de entre el grupo que consiste en Streptococcus sp., Lactobacillus sp., Bifidobacterium sp. y combinaciones de las mismas, tal como se ha definido anteriormente, y especialmente Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Bifidobacterium animalis subsp. lactis, o una combinación de las mismas.

Según una forma de realización particular, el cultivo de bacterias utilizado en la presente invención comprende:

por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas, tales como Lactococcus sp., y

5

10

30

35

40

45

50

55

- por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico termófilas, seleccionadas de *Streptococcus sp., Lactobacillus sp., Bifidobacterium* sp., y una mezcla de las mismas.
- 15 Según una forma de realización preferida, el cultivo de bacterias utilizado en la presente invención comprende:
  - por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas seleccionadas de Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris y una mezcla de las mismas, y
- por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico termófilas seleccionadas de Streptococcus thermophilus, Streptococcus lactis, Streptococcus raffinolactis, Streptococcus cremoris, Lactobacillus bulgaricus, and especially Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus casei, Lactobacillus pentosus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bifidus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium animalis y especialmente Bifidobacterium animalis subsp. lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum y una mezcla de las mismas.
  - Según otra forma de realización, el cultivo de bacterias comprende por lo menos una cepa de *Bifidobacterium* sp. El *Bifidobacterium* sp. puede ser *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium animalis* y especialmente *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* o una combinación de las mismas.
  - Según una forma de realización particular, el cultivo de bacterias comprende, especialmente consiste en, una combinación de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.
    - Según otra forma de realización particular, el cultivo de bacterias comprende, especialmente consiste en, una combinación de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*.
    - La etapa de fermentación se detiene, especialmente mediante enfriamiento, ventajosamente al alcanzar el pH de rotura, es decir, un pH comprendido entre 4.80 y 4.20, especialmente entre 4.65 y 4.35.

La lactasa utilizada en la presente invención puede ser cualquier tipo de lactasa, tal como:

Referencia comercial	Proveedor
Ha-lactase™ 5200	CHR Hansen
Maxilact® Lgi 5000	DSM

La lactasa se añade ventajosamente en una cantidad de 0.005% en peso a 0.20% en peso, en particular de 0.01% en peso a 0.15% en peso, preferentemente de 0.02% en peso a 0.06% en peso, respecto al peso total del producto lácteo

En el método de fabricación del producto lácteo fermentado colado según la invención, la lactasa se añade antes de la adición del cultivo de bacterias. Preferentemente, la lactasa se añade antes del cultivo de bacterias, especialmente por lo menos 10 min y en particular por lo menos 20 min antes del cultivo de bacterias, tal como 10 a 40 min antes del cultivo de bacterias, en particular 20 a 30 min antes del cultivo de bacterias.

- En efecto, inesperadamente se ha demostrado que la adición de lactasa al producto lácteo poco antes del cultivo de bacterias permite una mejora adicional la etapa de separación (ver el ejemplo 4).
- Preferentemente, no se añade ningún otro enzima en la presente etapa o en otra etapa del método según la invención. En particular, no se añade quimosina (presente en el cuajo) en la presente etapa o en otra etapa del método según la invención.

#### Etapa (c) - separación de una fase líquida (denominada suero de leche) a partir del producto lácteo fermentado

Tras la fermentación, el producto lácteo fermentado se somete a una etapa de separación con el fin de formar un producto lácteo fermentado colado con una cantidad de proteínas totales más elevada que la del producto lácteo fermentado de partida.

En la presente etapa, una fase líquida (el suero de leche) que contiene principalmente agua, lactosa y minerales, se separa del producto lácteo fermentado de manera que queda el producto lácteo fermentado colado.

La presente etapa se lleva a cabo preferentemente mediante centrifugación, utilizando de esta manera un separador centrífugo como dispositivo de separación.

La presente etapa se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura (temperatura de separación) comprendida entre 30°C y 45°C, especialmente entre 35°C y 43°C. En consecuencia, podría resultar necesario calentar o enfriar (especialmente calentar) el producto lácteo fermentado obtenido al final de la etapa de fermentación (b) hasta la temperatura de separación antes de llevar a cabo la etapa de separación (c).

Ventajosamente, la mayor parte de las proteínas contenidas en el producto lácteo fermentado permanecen en el producto lácteo fermentado colado final. La tasa de recuperación de proteínas (TRP) es, de esta manera, ventajosamente superior a 93% en peso, preferentemente superior a 95% en peso.

La expresión "tasa de recuperación de proteínas" se refiere, en la presente invención, a la proporción en porcentaje entre el contenido de proteínas totales (en peso) en el producto lácteo fermentado y el contenido de proteínas totales (en peso) en el producto lácteo fermentado colado (es decir, la proporción entre el contenido de proteínas totales (en peso) en el producto lácteo antes y después de la etapa de separación (c)).

El producto lácteo fermentado colado que se obtiene al final de la presente etapa presentará de esta manera ventajosamente un contenido de proteínas totales comprendido entre 6% y 16%, especialmente entre 7% y 12%, tal como entre 8% y 10%. En efecto, el objetivo de la etapa de separación (c) es obtener un contenido diana de proteínas totales.

En ausencia de lactasa, se observa una obstrucción del dispositivo de separación tras sólo unas pocas horas de funcionamiento de la línea de producción, que requieren detener la línea de producción y limpiar el dispositivo de separación (ver el ejemplo 1 y las figuras 1 y 2). Dicha obstrucción resulta más importante en el caso de que el cultivo de bacterias utilizado en la etapa fermentada comprenda una combinación de bacterias de ácido láctico mesófilas y bacterias de ácido láctico termófilas ya que la etapa de separación es menos eficaz (ver el ejemplo 2).

De hecho, el problema de obstrucción al que se hace referencia en la presente memoria no está relacionado con la obstrucción estándar de las boquillas, observado comúnmente en los procedimientos estándares de separación centrífuga, al resultar colapsadas una o dos boquillas por partículas pequeñas y resultar afectados los caudales de salida del dispositivo como consecuencia inmediata.

El fenómeno de obstrucción indicado en la presente memoria se observa entre los discos de separación del dispositivo centrífugo (ver la figura 1) y asimismo a lo largo de los canales ascendentes del dispositivo. Una acumulación de proteínas presente a una concentración muy elevada (aproximadamente 29% de las proteínas analizadas) aparentemente es la fuente más probable del problema que se encuentra. Por lo tanto, el impacto sobre las modificaciones de los caudales observadas al producirse la obstrucción estándar de las boquillas no se observa en dicho tipo de obstrucción. En el presente caso, los impactos principales que se observan son (ver la figura 2):

- reducción súbita del contenido de proteínas totales en el producto lácteo fermentado colado,
- incremento súbito del contenido de proteínas totales en el suero de leche separado, y
- no se observa ninguna mejora en absoluto al incrementar el flujo de entrada; en ocasiones empeora la situación.

Puede plantearse la hipótesis de que una pequeña parte de las proteínas no solubilizadas podría "iniciar" la obstrucción mediante adherencia a las paredes del dispositivo de separación debido a una biopelícula específica producida por la especificidad de las cepas bacterianas utilizadas en la etapa de fermentación. Después, cuanto más avanza el procedimiento, más se acumulan las proteínas sobre los discos.

Al producirse dicho problema de obstrucción, el contenido de proteínas totales en la fase líquida o suero de leche se incrementa, mientras que el contenido de proteínas totales en el producto lácteo fermentado colado se reduce (ver el ejemplo 1/figuras 1 y 2). Además del problema de obstrucción, a continuación resulta difícil o imposible alcanzar el contenido diana de proteínas totales en el producto lácteo fermentado colado final, con independencia del flujo de entrada aplicado.

60

55

5

15

20

25

30

35

40

45

50

Sin respaldo teórico, los inventores consideran que dicho problema de obstrucción de los discos podría deberse a la producción de exopolisacáridos (EPS) por parte de las bacterias, que podría conducir a que se obtenga una estructura de gel con una permeabilidad más baja, una unión incrementada al agua y la formación de una biopelícula que puede adherirse a las paredes internas del dispositivo de separación.

Los inventores consideran que la adición de lactasa, durante la etapa de fermentación, permite superar dicho problema de obstrucción, probablemente mediante la modificación del metabolismo de las bacterias utilizadas para la etapa de fermentación, produciendo un impacto a continuación sobre la producción de EPS (especialmente de cantidad y/o de naturaleza).

#### Etapa opcional (d) - Suavización

5

10

15

20

25

35

50

55

60

65

Asimismo puede llevarse a cabo una etapa de suavización (e) después de la etapa de separación (c).

La presente etapa de suavización puede llevarse a cabo mediante un mezclador de rotor-estator, tal como el definido en el documento WO 2007/095969.

La presenta etapa puede llevarse a cabo a una temperatura (temperatura de suavización) de entre 30°C y 45°C.

#### Etapa opcional (e) - Enfriamiento

Ventajosamente, el producto lácteo fermentado colado es un producto refrigerado, es decir, un producto con una temperatura de almacenamiento de entre 1°C y 10°C, especialmente de entre 4°C y 8°C.

El método según la invención de esta manera puede comprender después de la etapa (c), y especialmente después de la etapa (d), cuando se lleva a cabo una etapa de suavización, una etapa adicional (e) de enfriamiento del producto lácteo fermentado colado hasta su temperatura de almacenamiento.

30 Etapa opcional (f) - Adición de aditivos alimentarios después de la etapa de separación

Podría contemplarse la adición al producto lácteo fermentado colado, después de la etapa de separación (c), y especialmente después de la etapa (d) en el caso de que se lleve a cabo una etapa de suavización, y especialmente después de la etapa (e) en el caso de que se lleve a cabo una etapa de enfriamiento, aditivos alimentarios adicionales, tales como un material de nata y/o una preparación de fruta, en caso necesario.

El material de nata puede ser nata o una mezcla de nata y leche. Puede presentar un contenido de grasas de entre 20% y 50% en peso, en particular de entre 23% y 40% en peso.

La preparación de fruta puede seleccionarse de frutas, trozos de frutas, puré de frutas, compota de frutas, salsa de frutas, coulis de frutas, confitura de frutas, gelatina de frutas, zumo de frutas y mezclas de los mismos, opcionalmente en una forma concentrada o seca, opcionalmente presente en una matriz.

Por ejemplo, la fruta o frutas de la preparación a base de frutas puede seleccionarse de entre fresa, frambuesa, mora, arándano, cereza, albaricoque, melocotón, pera, manzana, ciruela, piña, mango, plátano, papaya, fruta de la pasión, pomelo, naranja, limón, kiwi, coco, vainilla y mezclas de las mismas.

La presente invención se refiere además a la utilización de una lactasa para evitar la obstrucción del dispositivo de separación utilizado en la preparación de un producto lácteo fermentado colado.

El producto lácteo fermentado colado puede ser tal como se ha definido anteriormente. En particular, el producto lácteo fermentado colado presentará de esta manera un contenido de proteínas totales comprendido entre 6% y 16%, especialmente de entre 7% y 12%, tal como de entre 8% y 10%. El producto lácteo fermentado colado puede ser más particularmente un producto refrigerado, es decir, un producto con una temperatura de almacenamiento de entre 1°C y 10°C, especialmente de entre 4°C y 8°C.

Dicho producto lácteo fermentado colado se prepara a partir de un producto lácteo fermentado mediante una etapa de separación, utilizando un dispositivo de separación. El dispositivo de separación es ventajosamente un separador centrífugo. La etapa de separación puede llevarse a cabo especialmente tal como se ha definido anteriormente para la etapa (c). A la etapa de separación le puede seguir una etapa de enfriamiento del producto lácteo fermentado colado hasta su temperatura de almacenamiento.

El producto lácteo fermentado utilizado para preparar el producto lácteo fermentado colado presentará ventajosamente un contenido de proteínas totales comprendido entre 2-8% y 4.6%, especialmente de entre 3.1% y 4.0%, tal como de entre 3.2% y 3.6%. El producto lácteo fermentado puede prepararse a partir de un producto lácteo, especialmente tal como se define en la etapa (a), anteriormente. La preparación del producto lácteo

fermentado a partir del producto lácteo comprende por lo menos una etapa de fermentación utilizando especialmente el cultivo de bacterias tal como se ha definido anteriormente. Dicha etapa de fermentación está precedida ventajosamente por una etapa de tratamiento térmico. La etapa de fermentación y la etapa de tratamiento térmico pueden llevarse a cabo tal como se ha definido anteriormente (ver las etapas (a) y (b)).

La lactasa puede ser cualquier tipo de lactasa, tal como:

Referencia comercial	Proveedor
Ha-lactase™ 5200	CHR Hansen
Maxilact® Lgi 5000	DSM

La invención se define mediante el juego de reivindicaciones adjunto. Podrían aparecer datos o ventajas adicionales de la invención en los ejemplos a continuación, ilustrados mediante las figuras siguientes.

#### **Figuras**

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

La figura 1 presenta fotografías de obstrucción de discos que se produce en un método de fabricación de un producto lácteo fermentado colado sin utilizar ninguna lactasa.

La figura 2 representa los gráficos de contenido de proteínas totales en el producto lácteo fermentado colado (masa tamizada) y el suero de leche separado en función del tiempo, así como el flujo de entrada en el dispositivo de separación en función del tiempo, en la producción durante 6 horas y 30 minutos con un dispositivo de separación centrífugo a escala industrial.

La figura 3 representa el porcentaje de liberación de suero de leche a partir de productos lácteos fermentados del ejemplo 2 (respecto a la influencia del cultivo de bacterias) en comparación con el producto de referencia (producto a)).

La figura 4 representa fotos de microscopía confocal de a) un producto lácteo fermentado con sólo bacterias de ácido láctico termófilas (a la izquierda) y b) un producto lácteo fermentado con un cultivo de bacterias de ácido láctico termófilas y mesófilas (a la derecha).

La figura 5 representa el porcentaje de liberación de suero de leche a partir de los productos lácteos fermentados del ejemplo 3 (respecto al impacto de la adición de lactasa) en comparación con el producto de referencia (producto a)).

La figura 6 representa el porcentaje de liberación de suero de leche a partir de los productos lácteos fermentados del ejemplo 4 (respecto al impacto de las dosis y el tiempo de adición de la lactasa) en comparación con el producto de referencia (producto a)).

La figura 7 representa el contenido de proteínas totales de los productos lácteos fermentados colados obtenidos en el ejemplo 4 (respecto al impacto de la dosis y tiempo de adición de la lactasa).

#### **Ejemplos**

1. Evolución del contenido de proteínas totales en la salida del dispositivo de separación durante la separación antes y después de aparecer la obstrucción de discos

Se preparó un producto lácteo fermentado colado mediante fermentación de una mezcla láctea desnatada tratada térmicamente (preparada a partir de leche desnatada y leche desnatada en polvo en proporciones para obtener un contenido de proteínas totales de aproximadamente 3.5%) con un cultivo de bacterias de ácido láctico que consiste en una mezcla de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*.

El tratamiento térmico se llevó a cabo siguiendo las etapas siguientes:

- una primera etapa de pretratamiento térmico hasta alcanzar una temperatura de aproximadamente 60°C, seguido de:
  - una etapa de homogeneización a una presión de aproximadamente 50 bar (2 etapas), seguido de:
  - una segunda etapa de tratamiento térmico a una temperatura de aproximadamente 92°C durante aproximadamente 5 min.

La mezcla láctea tratada térmicamente se fermentó a 37°C y entró en acidificación láctica hasta alcanzar un pH diana de 4.60.

A continuación, el producto lácteo fermentado se recalentó hasta una temperatura de separación apropiada, aproximadamente 41°C, y después se separó con un dispositivo de separación centrífuga de 12 boquillas para producir aproximadamente 1/3 de un producto lácteo fermentado colado, alcanzando un contenido de proteínas totales de aproximadamente 10% y 2/3 de suero de leche.

5

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Después de algunas horas de producción, el contenido de proteínas totales en el producto fermentado colado en la salida del dispositivo se reduce abruptamente (a menos de 9.3% del contenido de proteínas totales), mientras que el contenido de proteínas totales recuperado en el suero de leche se incrementa a la inversa (hasta más de 0.50%), sin observar ninguna fluctuación en los flujos ni del suero de leche ni en la salida de masa fermentada tamizada (ver la figura 2), debido a una obstrucción de los discos del dispositivo de separación centrífuga (ver la figura 1).

Al aparecer dicho efecto, los presentes inventores observaron una degradación de los parámetros principales del rendimiento de separación: la tasa de recuperación de proteínas se redujo significativamente (2% frente a la fase inicial de la producción y empeorando a medida que avanzaba la producción) a la vez que se incrementaba el rendimiento de la misma manera.

2. Impacto del cultivo de bacterias sobre la obstrucción de los discos del separador centrífugo

Se preparó una mezcla láctea tratada térmicamente tal como en el ejemplo 1. A continuación, la mezcla láctea tratada térmicamente se dividió en 3 lotes, para la inoculación con 3 cultivos diferentes de bacterias:

a) un cultivo de sólo cepas de bacterias de ácido láctico termófilas: *Lactobacillus Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*,

b) un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (*Lactobacillus Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium bifidum*) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*),

c) un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (*Lactobacillus Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*).

A continuación, las tres mezclas lácteas tratadas térmicamente se fermentaron tal como se indica en el ejemplo 1. Los productos lácteos fermentados a continuación se recalentaron hasta la temperatura de separación apropiada, aproximadamente 41°C, y después se separaron en una centrífuga de laboratorio: 4 muestras de 40 g de cada producto lácteo fermentado, a 4000 rpm durante 4 min. Después, se pesó el suero de leche separado con un dispositivo de pesaje de precisión. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 3 como porcentaje de liberación de suero de leche en comparación con el producto a) considerado el producto de referencia.

Estos resultados demuestran que la cantidad de suero de leche liberada por cada producto lácteo fermentado es totalmente dependiente del tipo de bacterias utilizadas para la etapa de fermentación: en todos los productos en que se utilizó una combinación de bacterias de ácido láctico termófilas y mesófilas (productos b) y c)) para la etapa de fermentación, se observó una reducción de la capacidad de liberación de suero de leche.

Sin respaldo teórico, los inventores creen que, dependiendo del tipo de bacteria utilizado para llevar a cabo la etapa de fermentación, pueden variar los compuestos secundarios que resultan de la fermentación del ácido láctico estándar, produciendo diferencias en la permeabilidad del coágulo, produciendo por lo tanto diferencias en la manera en que el cuajo es capaz de separar la fase líquida (suero de leche) con respecto de la fase sólida.

Los productos lácteos fermentados a) y b) asimismo se observaron mediante microscopía confocal (microscopio confocal Leica TC SP2 - marcadores fluorescentes para proteínas DyLight 488,  $\lambda_{abs}$ =493 nm;  $\lambda_{emi}$ =518 nm, 10 µl en 500 µl de producto fermentado - x40 inmersión en agua a 20°C). Las fotos correspondientes se presentan en la figura 4 (a la izquierda, el producto lácteo fermentado que contiene únicamente cepas termófilas (producto a)) y a la derecha, el producto lácteo fermentado que contiene un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas y mesófilas (producto b). Puede observarse que la densidad de la red de proteínas es diferente en ambos productos lácteos fermentados: el producto lácteo b) es más granular, con espacios "oscuros" más grandes entre los agregados de proteínas.

Sin respaldo teórico, los inventores creen que los espacios "oscuros" en las redes de proteínas podrían contener diferentes tipos y cantidades de metabolitos secundarios de la fermentación (tales como, por ejemplo, exopolisacáridos), capaces de ligar el agua, por lo tanto que provocan que el coágulo resulte más impermeable y, de esta manera, más difícil de separar.

- 3. <u>Impacto de la adición de una lactasa sobre la capacidad de liberación de suero de leche de un producto lácteo</u> fermentado con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas y mesófilas
- Se preparó una mezcla láctea tratada térmicamente tal como en el ejemplo 1. A continuación, la mezcla láctea tratada térmicamente se dividió en 3 lotes, para la inoculación de la manera siguiente:
  - a) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus y Bifidobacterium bifidum) y de una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas (Lactococcus lactis subsp. lactis),
  - b) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (*Lactobacillus bulgaricus*, (*Streptococcus thermophilus yBifidobacterium bifidum*) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*),), y una lactasa (Ha-Lactase™ 5200 de Hansen a una dosis de 0.04%),
- 15 c) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus).

10

40

45

60

Las tres mezclas lácteas se fermentaron tal como se detalla en el ejemplo 1. Los productos lácteos fermentados a continuación se recalentaron hasta la temperatura de separación apropiada, aproximadamente 41°C, y después se separaron en una centrífuga de laboratorio: 4 muestras de 40 g de cada producto lácteo fermentado, a 4000 rpm durante 4 min. Después, se pesó el suero de leche separado con un dispositivo de pesaje de precisión. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 5 como porcentaje de liberación de suero de leche en comparación con el producto a) considerado el producto de referencia.

- Se observó que la cantidad de suero de leche liberado por cada producto lácteo fermentado era totalmente dependiente del tipo de cultivo de bacterias tal como se indica en el ejemplo 2 (producto a) vs. producto c)). Se observó además que la adición de lactasa conduce a un incremento significativo de la permeabilidad del cuajo (producto a) vs. Producto b)), próximo a la permeabilidad del cuajo del producto lácteo fermentado con sólo cepas termófilas (producto c)).
  - 4. Impacto de la dosis y tiempo de adición de una lactasa sobre la capacidad de liberación de suero de leche de un producto lácteo fermentado con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas y mesófilas
- 35 Se preparó una mezcla láctea tratada térmicamente tal como en el ejemplo 1. A continuación, la mezcla láctea tratada térmicamente se dividió en 5 lotes, para la inoculación de la manera siguiente:
  - a) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus y Bifidobacterium bifidum) y de cepas mesófilas (Lactococcus lactis subsp. lactis),
  - b) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus Bulgaricus, (Lactobacillus Bulgaricus, Streptococcus thermophilus y Bifidobacterium bifidum) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (Lactococcus lactis subsp. Lactis) y una lactasa (Maxilact® LGi 5000 de DSM a una dosis de 0.06%).
  - c) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus yBifidobacterium bifidum) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (Lactococcus lactis subsp. lactis) y una lactasa (Maxilact® LGi 5000 de DSM a una dosis de 0.05%),
- d) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus yBifidobacterium bifidum) y de una cepa de bacteria de ácido láctico mesófila (Lactococcus lactis subsp. lactis) y un cultivo de una lactasa (Maxilact® LGi 5000 de DSM a una dosis de 0.05%) añadida 20 minutos antes de la inoculación del cultivo de bacterias,
- e) con un cultivo de cepas de bacterias de ácido láctico termófilas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*).

A continuación, los cinco productos lácteos se fermentaron tal como en el ejemplo 1. Los productos lácteos fermentados a continuación se recalentaron hasta la temperatura de separación apropiada, aproximadamente 41°C, y después se separaron en una centrífuga de laboratorio: 4 muestras de 40 g de cada producto lácteo fermentado, a 4000 rpm durante 4 min. Después, se pesó el suero de leche separado con un dispositivo de pesaje de precisión. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 6 como porcentaje de liberación de suero de leche en comparación con el producto a) considerado el producto de referencia.

65 Se observó que la cantidad de suero de leche liberado por cada coágulo es totalmente dependiente del tipo de cultivo de bacterias (producto a) vs. producto e)) tal como se indica en los ejemplos 2 y 3. Se observó además que

la adición de una lactasa conduce a un incremento significativo de la permeabilidad del cuajo (productos b), c) y d) vs. producto a)). Además, se observó que el tiempo de adición de la lactasa presenta un impacto adicional sobre la etapa de separación (producto c) vs. producto d)). Al añadir la lactasa 20 minutos antes del cultivo de bacterias, el impacto sobre la capacidad de liberación de suero de leche era superior, permitiendo una ligera reducción de la dosis de la lactasa misma.

5

El contenido de proteínas totales de los productos diarios fermentados colados obtenido en cada caso se presenta en la figura 7.

#### REIVINDICACIONES

- 1. Método para fabricar un producto lácteo fermentado colado que comprende las etapas sucesivas siguientes:
- 5 (a) proporcionar un producto lácteo,

10

15

30

35

40

- (b) añadir una lactasa y un cultivo de bacterias que comprende por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico termófilas y por lo menos una cepa de bacterias de ácido láctico mesófilas y fermentar el producto lácteo para obtener un producto lácteo fermentado, y
- (c) separar un suero de leche líquido del producto lácteo fermentado para obtener un producto lácteo fermentado colado.
- en el que se añade la lactasa antes del cultivo de las bacterias.
- 2. Método según la reivindicación 1, en el que el producto lácteo proporcionado en la etapa (a) presenta un contenido de proteína total comprendido entre 2.8 y 4.6%, particularmente entre 3.1 y 4.0%, tal como entre 3.2 y 3.6%.
- 3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que el producto lácteo fermentado colado obtenido presenta un contenido de proteína total comprendido entre 6 y 16%, particularmente entre 7 y 12%, tal como entre 8 y 10%.
- Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la cepa de bacteria de ácido láctico mesófila se selecciona de entre *Lactococcus sp.*, en particular se selecciona de entre *Lactococcus lactis* subsp. *lactis, Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* y combinaciones de las mismas.
  - 5. Método según la reivindicación 4, en el que la cepa de bacteria de ácido láctico mesófila es *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.
  - 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la cepa de bacteria de ácido láctico termófila se selecciona de entre *Streptococcus sp., Lactobacillus sp., Bifidobacterium sp.* y combinaciones de las mismas, en particular se selecciona de entre *Lactobacillus bulgaricus* y especialmente *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus casei, Lactobacillus pentosus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bifidus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium animalis* y especialmente *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum, Streptococcus thermophilus, Streptococcus lactis, Streptococcus raffinolactis, Streptococcus cremoris* y combinaciones de las mismas.
  - 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la cepa de bacteria de ácido láctico termófila se selecciona de entre *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* y combinaciones de las mismas.
- 45 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el cultivo de bacterias es una combinación de Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis subsp. lactis y Bifidobacterium animalis subsp. lactis.
- 9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la lactasa se añade 10 a 40 min, particularmente 20 a 30 min, antes del cultivo de bacterias.
  - 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la lactasa se añade en una cantidad de 0.005% en peso a 0.20% en peso, en particular 0.01% en peso a 0.15% en peso, preferentemente 0.02% en peso a 0.06% en peso, sobre la base del peso total del producto lácteo.
  - 11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 10, en el que el producto lácteo se fermenta a una temperatura entre 25°C y 44°C, particularmente entre 30 y 40°C, durante 3 a 25 horas, preferentemente durante 5 a 15 horas.
- 60 12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la etapa (c) se lleva a cabo mediante centrifugación.
- 13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende una etapa adicional (e) después de la etapa (c) de enfriar el producto lácteo fermentado colado hasta una temperatura de entre 1 y 10°C, particularmente entre 4 y 8°C.

14. Utilización de una lactasa para evitar la obstrucción del dispositivo de separación utilizado en la preparación de un producto lácteo fermentado colado.	



Figura 1

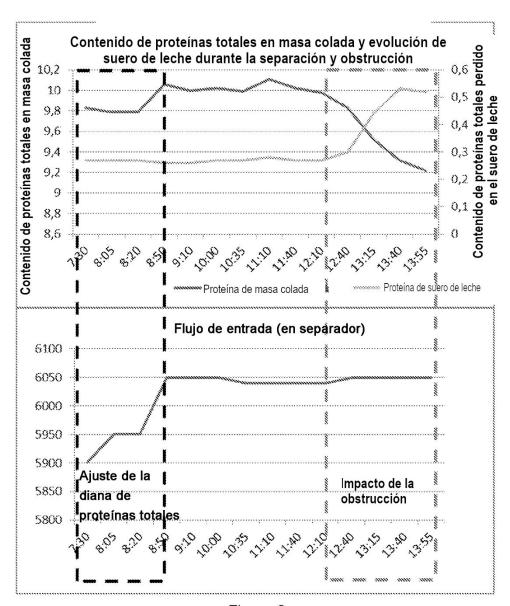
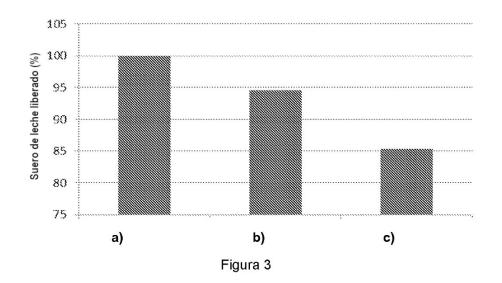


Figura 2



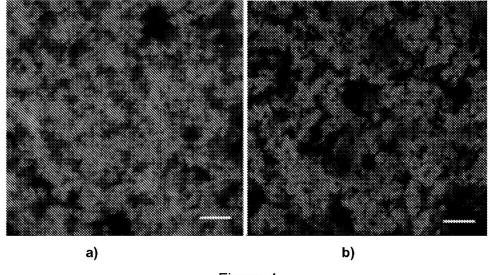
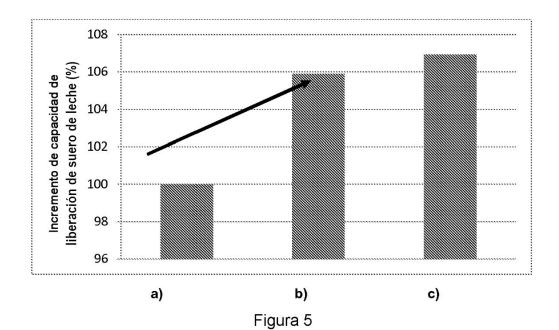


Figura 4



108

106

104

102

100

98

96

a)

Suero de leche liberado (%)

d)

e)

c)

Figura 6

b)

