(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 316 139**

(51) Int. Cl.:
A23K 1/00 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A23L 2/02 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **07290071 .5**
(96) Fecha de presentación : **19.01.2007**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1820406**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2007**

(54) Título: **Bebida fermentada, alimento fermentado, y procedimiento para producirlos.**

(30) Prioridad: **24.01.2006 JP 2006-14809**
24.01.2006 JP 2006-14810

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

(73) Titular/es: **Kagome Co., Ltd**
14-15 Nishiki 3-chome
Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken, JP

(72) Inventor/es: **Okamoto, Takamitsu;**
Nobuta, Yukihiro y
Yajima, Nobuhiro

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Bebida fermentada, alimento fermentado, y procedimiento para producirlos.

Antecedentes de la invención

1. **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a productos alimenticios o a bebidas fermentados, que usan una materia prima vegetal como materia prima principal, y se producen fermentando los materiales, y a procedimientos para producir tales productos alimenticios o bebidas fermentados.

2. **Descripción de la técnica relacionada**

Las bacterias del ácido láctico se han usado para producir diversos productos alimenticios y de bebidas fermentados, y algunas de las bacterias tienen *per se* excelentes actividades fisiológicas, tales como un efecto controlador de la función intestinal y una inhibición del crecimiento de gérmenes patógenos. Los excelentes productos alimenticios y de bebidas, beneficiosos para la salud, se pueden producir no sólo utilizando dichas bacterias del ácido láctico útiles, sino también incluyéndolas en un estado vivo en el alimento o bebida fermentada.

Por otro lado, se sabe que las cepas de bacterias del ácido láctico que pertenecen a *Lactobacillus brevis* (en lo sucesivo abreviadas aquí simplemente como *Lactobacillus brevis*) muestran una actividad especialmente potente frente al estrés, y tienen excelentes propiedades fisiológicas a lo largo de un intervalo extremadamente amplio. Hasta ahora se ha informado sobre su uso en, por ejemplo, agentes antialérgicos, potenciadores de la producción de interferón, agentes contra la gastritis y agentes contra las úlceras, agentes para el tratamiento/prevención de la hepatitis, inhibidores del crecimiento tumoral, activadores antitumorales, y en la producción del ácido γ-aminobutírico.

Como se ha descrito anteriormente, puesto que *Lactobacillus brevis* es una bacteria del ácido láctico muy útil que puede alcanzar fácilmente el intestino y sobrevivir durante un tiempo largo si se toma mientras que está viva, se desea desarrollar productos alimenticios y de bebidas fermentados, que comprenden *Lactobacillus brevis* en un estado vivo, para mejorar la salud. Se han propuesto diversos procedimientos para producir dichos productos alimenticios y de bebidas fermentados, e comprenden, por ejemplo, un procedimiento que utiliza un medio usado para una fermentación normal del ácido láctico, en la que la leche es la única materia prima, y un procedimiento en el que se añade ácido glutámico o un material que contiene ácido glutámico a materias primas vegetales, tales como frutas, vegetales, zumos de frutas o vegetales, leche de soja, y malta fermentada, y se fermenta para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados (véase la solicitud de patente japonesa abierta al público nº 2004-215529).

Sin embargo, si se usa un medio de fermentación en el que la leche es la única materia prima, surgen problemas por cuanto la multiplicación de *Lactobacillus brevis* es sólo aproximadamente cinco veces después de 48 horas, provocando una fermentación insuficiente, y no se puede obtener un producto alimenticio o de bebida fermentados de buena calidad.

También, incluso si se produce un alimento o bebida fermentada en el que ha transcurrido suficientemente la fermentación usando un medio de fermentación en el que se usa como materia prima alguna otra diferente de la leche sola, la fermentación del alimento o bebida continúa durante el almacenamiento o en refrigeración, puesto que *Lactobacillus brevis* tiene una fuerte resistencia frente al estrés, y esto provoca cambios en el sabor y aroma de los productos, y un deterioro en la calidad.

Además, el objetivo del procedimiento descrito en la solicitud de patente japonesa abierta al público nº 2004-215529 es producir, mediante fermentación, ácido γ-aminobutírico que tiene diversas actividades fisiológicas útiles, y obtener un producto alimenticio o de bebida fermentados que contiene el aminoácido. En este procedimiento, también existe el problema de que se obtiene un alimento o bebida que tiene un sabor, aroma, etc. indeseado, debido a los efectos indeseados del ácido glutámico que queda en el medio de fermentación, o del ácido γ-aminobutírico contenido de el alimento o bebida obtenido.

El documento EP 1508282 A1 describe un procedimiento para producir una bebida a base de zumo o una bebida concentrada con frutas, en la que la bebida a base de zumo o el concentrado de frutas se fermenta a un pH de partida entre 3,8 y 6,6 hasta que el pH del producto fermentado está por debajo de 3,5. En el proceso de fermentación se usa *Lactobacillus*.

Sumario de la invención

La presente invención se ha logrado en consideración a la situación anterior, y un objetivo de la presente invención es proporcionar productos alimenticios o bebidas fermentados que tienen un excelente sabor, aroma, y conservabilidad, que se obtienen fermentando un medio que comprende materia prima vegetal como materia prima principal, usando *Lactobacillus brevis*, y que contiene el número de células vivas de *Lactobacillus brevis* de 1 x 10^8 cfu/ml o mayor. En los productos alimenticios o bebidas fermentados, el número de células vivas no cambia significativamente después

de ser conservadas a 10ºC durante tres semanas, y el excelente sabor y aroma del alimento o bebida fermentados no se deteriora.

Esto es, a fin de resolver los problemas mencionados anteriormente, el primer aspecto de la presente invención es un procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentado, que comprende: añadir una cepa de bacteria de ácido láctico que pertenece a *Lactobacillus brevis* a un medio cuyo pH se ha ajustado a 4,6 hasta 7,0, comprendiendo el medio: una materia prima vegetal en una cantidad de 50% o más convertida en un zumo de la misma, y 0,2 a 2,0% en masa de ácido málico, o 2,0 a 20,00% en masa de fructosa, a fin de fermentar el medio de forma que el pH del medio sea 4,3 o superior, e inferior a 7,0; y ajustar el pH del producto fermentado a 3,3 hasta 4,1 usando un ácido.

Asimismo, el segundo aspecto de la presente invención es un procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según el primer aspecto, que comprende además: disminuir la temperatura del producto fermentado.

El tercer aspecto de la presente invención es el procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según el primer o segundo aspecto, en el que la cepa de bacteria de ácido láctico que pertenece a *Lactobacillus brevis* es la cepa FERM BP4693 de *Lactobacillus brevis*.

El cuarto aspecto de la presente invención es el procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según cualquiera de los aspectos primero a tercero, en el que el medio comprende además 0,1 a 20% en masa, como contenido de sólidos no grasos de leche.

El quinto aspecto de la presente invención es el procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según cualquiera de los aspectos primero a cuarto, en el que el medio contiene 0,2 a 0,45% en masa de ácido málico.

El sexto aspecto de la presente invención es un producto alimenticio o de bebida fermentados que se produce mediante el procedimiento descrito en los aspectos primero a quinto.

El séptimo aspecto de la presente invención es un producto alimenticio o de bebida fermentados según el sexto aspecto, que se usa para pienso para animales.

Según el procedimiento de producción de la presente invención, resulta posible incrementar el número de células vivas de *Lactobacillus brevis* en los productos fermentados obtenidos hasta 1 x 10^8 cfu/ml o superior, y se puede prevenir el cambio en el número de células vivas de *Lactobacillus brevis* después de almacenar los productos fermentados a 10ºC durante tres semanas tras su producción. En consecuencia, es posible proporcionar un producto alimenticio o de bebida fermentados que tenga una excelente conservabilidad, así como también un excelente sabor y aroma.

Descripción detallada de la invención

La invención resumida anteriormente y definida por las reivindicaciones enumeradas se pondrá más claramente de manifiesto haciendo referencia a la siguiente descripción detallada. Esta descripción detallada de formas de realización particulares preferidas, expuesta a continuación para permitir la puesta en práctica y uso particular de la invención, no está destinada a limitar las reivindicaciones enumeradas, sino que sirve como ejemplos particulares de las mismas.

En lo sucesivo, la presente invención se explicará con detalle.

Los ejemplos de materias primas vegetales que se pueden usar en la presente invención comprenden: vegetales, frutas, cereales, y habas.

Los ejemplos de los vegetales pueden incluir: tomate, pimiento morrón, zanahoria, repollo, col china, lechuga, rábano blanco, espinaca, col rizada, cebolla, berenjena, PETIT VERT (nombre comercial, un género cruzado de col rizada y coles de Bruselas), seta shiitake, y seta shimeji.

Los ejemplos de las frutas pueden incluir: pomelo, naranja, manzana, uva, fresa, piña, kiwi, guayaba, mango, acerola, arándano, granada, melocotón, pera, papaya, melón, sandía, plátano, e higo.

Los ejemplos de los cereales pueden incluir: trigo (malta), y arroz, y los ejemplos de las habas pueden incluir: haba de soja, y guisantes.

Según la presente invención, estas materias primas vegetales se pueden usar individualmente o en combinación de dos o más. La combinación se puede seleccionar adecuadamente según el objeto del producto.

Según la presente invención, las materias primas vegetales mencionadas anteriormente se pueden usar en un estado de líquido exprimido, o en forma triturada o pulverizada, o se pueden procesar para que estén concentradas, diluidas, o para convertirlas en materiales secos. Por ejemplo, en el caso de haba de soja, se puede usar en forma de leche de haba de soja.

Con respecto a las materias primas vegetales usadas en la presente invención, cuando se usa un medio que contiene ácido málico, es preferible, entre los descritos anteriormente, usar al menos uno seleccionado de entre el grupo constituido por zanahoria y PETIT VERT (nombre comercial), teniendo en cuenta el pH y la cantidad de ácido málico contenida. Estos vegetales contienen una cantidad adecuada de ácido málico, y el pH de sus productos procesados está próximo al pH requerido para el medio de fermentación antes de la fermentación. En consecuencia, mediante el uso de estos vegetales, es fácil ajustar el pH del medio de fermentación y la cantidad de ácido málico contenida en los mismos. Asimismo, teniendo en cuenta la capacidad de fermentación y la versatilidad general del líquido fermentado, es preferible usar un zumo claro hecho de al menos uno seleccionado de entre el grupo constituido por zanahoria y PETIT VERT (nombre comercial). Aunque según la presente invención se puede utilizar cualquier zumo concentrado, zumo no concentrado, zumo claro, etc., es preferible usar el zumo claro, puesto que durante la producción de un producto alimenticio o de bebida fermentados se pueden mezclar en el mismo diversos materiales, lo que aumenta el intervalo de uso del mismo. Obsérvese que la expresión "zumo claro" usada en la presente memoria significa un zumo que es claro y no turbio. Dicho zumo se puede obtener, por ejemplo, llevando a cabo un proceso de filtración usando una membrana UF.

Con respecto a las materias primas vegetales usadas en la presente invención, cuando se usa un medio que contiene fructosa, es preferible, entre los descritos anteriormente, usar al menos uno seleccionado de entre el grupo constituido por tomate, pimiento morrón, PETIT VERT (nombre comercial), y sandía, teniendo en cuenta el pH y la cantidad de fructosa contenida. Estos vegetales contienen una cantidad adecuada de fructosa, y el pH de sus productos procesados está próximo al pH requerido para el medio de fermentación antes de la fermentación. En consecuencia, mediante el uso de éstos, es fácil ajustar el pH del medio de fermentación y la cantidad de fructosa contenida los mismos. Asimismo, teniendo en cuenta la capacidad de fermentación y la versatilidad general del líquido fermentado, es preferible usar un zumo claro hecho de al menos uno seleccionado de entre el grupo constituido por tomate, pimiento morrón PETIT VERT (nombre comercial), y sandía. De forma similar al medio que contiene ácido málico, aunque se puede utilizar para el medio que contiene fructosa según la presente invención cualquier zumo concentrado, zumo no concentrado, zumo claro, etc., es preferible usar el zumo claro, puesto que durante la producción de un producto alimenticio o de bebida fermentados se pueden mezclar en el mismo diversos materiales, lo que incrementa el intervalo de su uso. Como se ha descrito anteriormente, la expresión "zumo claro" significa un zumo que es claro y no turbio, y tal zumo se puede obtener, por ejemplo, llevando a cabo un proceso de filtración usando una membrana UF.

Según la presente invención, la materia prima vegetal mencionada anteriormente está contenida en el medio de fermentación en la cantidad de 50% o más, preferentemente en la cantidad de 75% o más, cuando se convierte en un zumo de la misma. Aquí, la frase "se convierte en un zumo" significa una conversión en un zumo concentrado de una materia prima vegetal que no está sometido a ningún proceso que acompaña un cambio en la concentración del zumo, tal como un proceso de concentración o un proceso de dilución. En consecuencia, es posible que el medio contenga la materia prima vegetal y la cantidad de 100% o más si se usa un producto concentrado de una materia prima vegetal, y la concentración se puede ajustar adecuadamente basándose en los objetos.

Según la presente invención, cuando se usa un medio que contiene ácido málico, la cantidad de ácido málico contenida en el medio de fermentación está en el intervalo de 0,2 a 2,0% en masa, preferentemente de 0,2 a 0,45% en masa. Aunque habrá en el producto fermentado ácido carbónico producido por la fermentación, cuya cantidad depende de la cantidad de ácido málico contenida en el medio de fermentación, es posible reducir la cantidad de ácido carbónico en el producto fermentado ajustando la cantidad de ácido málico contenida para que esté comprendida en el intervalo de 0,2-4,5% en masa, y el alimento o bebida fermentada obtenida tenga mejores características, tales como sabor y aroma, con menos estimulación de la lengua. También, es preferible ajustar la cantidad de ácido málico para que esté comprendido dentro del intervalo mencionado anteriormente usando el ácido málico contenido de la materia prima vegetal, por ejemplo, diluyéndolo con agua destilada, etc., después de procesar adecuadamente la materia prima vegetal. Si es difícil ajustar la cantidad de ácido málico usando sólo la materia prima vegetal, es posible añadir ácido málico desde otra fuente, en tanto que no deteriore el efecto de la presente invención. Cuando se añade ácido málico desde otra fuente, es preferible usar una disolución acuosa del ácido málico. Puesto que *Lactobacillus brevis* puede asimilar el ácido málico, se puede llevar a cabo un excelente proceso de fermentación comprendiendo una cantidad adecuada de ácido málico en el medio de la manera como se explica ha mencionado anteriormente.

Según la presente invención, cuando se usa un medio que contiene fructosa, la cantidad de fructosa contenida en el medio de fermentación está comprendida en el intervalo de 2,0 a 20,0% en masa, y es preferible ajustar la cantidad de fructosa para que esté comprendida dentro del intervalo mencionado anteriormente usando la fructosa contenida en la materia prima vegetal, por ejemplo diluyéndola con agua destilada, etc., tras procesar adecuadamente la materia prima vegetal. Si es difícil ajustar la cantidad de fructosa usando sólo la materia prima vegetal, es posible añadir fructosa desde otra fuente, en tanto que no deteriore el efecto de la presente invención. Cuando se añade fructosa desde otra fuente, es preferible usar una disolución acuosa de la fructosa. Puesto que *Lactobacillus brevis* puede asimilar fructosa, se puede llevar a cabo un excelente proceso de fermentación comprendiendo una cantidad adecuada de fructosa en el medio de la manera como se ha mencionado anteriormente.

Según la presente invención, es posible añadir leche al medio mencionado anteriormente en una cantidad de 0,1 a 20% en masa como un contenido de sólidos no grasos. Mediante la adición de leche al medio, también es posible llevar a cabo un excelente proceso de fermentación usando *Lactobacillus brevis* para incrementar el número de células vivas contenidas en los productos fermentados. Los ejemplos de leche que se puede usar para este fin comprenden: leche de animales, leche desnatada, leche fermentada, y sus productos tratados con enzimas. Entre estos, es preferible usar leche desnatada.

Con respecto a la adición de leche, su efecto puede que no se observe si la cantidad de leche es menor que 0,1% en masa con un contenido de sólidos no grasos. También, si la cantidad de leche añadida es mayor que 20% en masa con un contenido de sólidos no grasos, el proceso de fermentación no puede transcurrir de manera satisfactoria debido al estrés aplicado a *Lactobacillus brevis*, y el sabor o aroma de los productos fermentados obtenidos tiende a deteriorarse. Además, en tales casos, la preparación del propio medio de fermentación tiende a ser difícil.

Según la presente invención, el pH del medio de fermentación se ajusta para que esté dentro del intervalo de 4,6-7,0 antes de la fermentación. Es preferible que el pH se ajuste dentro del intervalo mencionado anteriormente, por ejemplo, diluyendo con agua destilada, etc., sin usar un ajustador del pH tras procesar adecuadamente la materia prima vegetal, o ajustando adecuadamente el tipo o cantidad de la materia prima vegetal. Si es necesario usar un ajustador del pH, se puede añadir aquél que se usa generalmente para alimentos, en tanto que no deteriore el efecto de la presente invención, y su tipo no está limitado particularmente. Los ejemplos de un ácido preferible comprenden ácido cítrico, y los ejemplos de una base preferible comprenden carbonato potásico. Si el ajustador del pH usado está en forma de cristales, es preferible usar una disolución acuosa del mismo.

Aunque el contenido de azúcar (en lo sucesivo abreviado en la presente memoria como Brix.) del medio de fermentación no está limitado particularmente, está preferentemente comprendido dentro del intervalo de 6 a 24%.

Con respecto al contenido de ácido malónico o de fructosa del medio usado para la fermentación, aquél se puede ajustar, junto con su pH, por ejemplo, diluyendo el medio con agua destilada, etc., tras procesar adecuadamente la materia prima vegetal mencionada anteriormente. Sin embargo, el procedimiento para ajustar el contenido de ácido málico o de fructosa, o el pH del medio, no está limitado particularmente, y, si es necesario, se puede añadir al medio ácido málico o fructosa procedente de otra fuente, o un ajustador del pH. Es preferible que el medio de fermentación preparado de la manera mencionada anteriormente se esterilice por calor en condiciones predeterminadas antes de la inoculación con *Lactobacillus brevis*.

Los ejemplos de agua usada en la presente invención comprenden agua destilada, agua intercambiada iónicamente, etc.

Los ejemplos de *Lactobacillus brevis* usada en la presente invención comprenden la cepa FERM BP-4693 de *Lactobacillus brevis* (en lo sucesivo abreviada aquí como *Lactobacillus brevis* BP4693), y la cepa JCM1059 de *Lactobacillus brevis* (en lo sucesivo abreviada aquí como *Lactobacillus brevis* JCM 1059). Entre estas, es preferible la cepa BP-4693 de *Lactobacillus brevis* desde el punto de vista de llevar a cabo un proceso de fermentación más deseable y una facilidad para obtener un número suficiente de células vivas. Nótese que *Lactobacillus brevis* se puede usar de forma individual o en una mezcla de dos o más tipos.

Lactobacillus brevis BP-4693 está disponible de National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository, y *Lactobacillus brevis* está disponible de RIKEN BioResource Center.

Es preferible que *Lactobacillus brevis* se use para la fermentación del medio tras ser precultivada. El precultivo se puede llevar a cabo usando procedimientos convencionales. Los ejemplos de tales procedimientos comprenden uno en el que se disuelve en agua destilada un medio comercialmente disponible para bacteria de ácido láctico, de forma que su concentración se convierte en una concentración predeterminada y, tras esterilizarlo usando un autoclave, se inocula *Lactobacillus brevis* durante un período predeterminado con el medio a precultivar.

La fermentación del medio usando *Lactobacillus brevis* se puede llevar a cabo usando medios convencionales. Por ejemplo, el producto precultivado mencionado anteriormente se puede inocular para cultivar *Lactobacillus brevis*. La cantidad de inoculación está preferentemente en el intervalo de 0,1 a 10% en volumen, la temperatura durante el cultivo está preferentemente en el intervalo de 20 a 40ºC, y el período de tiempo para el cultivo es preferentemente 12 a 72 horas. Según la presente invención, es importante controlar el grado de fermentación a fin de obtener un alimento o bebida fermentada que tiene un excelente sabor, aroma, y capacidad de conservación, y se puede obtener un alimento o bebida fermentada que tenga una excelente calidad si se cumplen las condiciones mencionadas anteriormente.

Según la presente invención, el pH del producto fermentado al final de la fermentación es 4,3 o mayor, y menor que 7,0. Si el pH está dentro de este intervalo, se puede obtener un grado adecuado de fermentación a fin de producir un alimento o bebida fermentada que tiene un excelente sabor, aroma, y capacidad de conservación.

También, según la presente invención, el pH del producto fermentado después de terminar la fermentación se ajusta para que sea 3,3 a 4,1, preferentemente 3,6 a 4,0, usando un ácido. Mediante el ajuste del pH del producto fermentado de la manera descrita anteriormente, es posible detener la fermentación del medio para evitar cambios en el sabor o aroma de los productos fermentados durante su conservación.

Según la presente invención, los tipos de ácido usados no están limitados particularmente en tanto que el ácido sea aplicable generalmente al alimento. Los ejemplos del ácido comprenden compuestos orgánicos ácidos, tales como ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, y ácido málico, y compuestos inorgánicos ácidos, tales como ácido fosfórico. Al menos uno de estos se puede seleccionar y usar arbitrariamente. Sin embargo, como se ha explicado anteriormente, es preferible usar ácido láctico si se añade leche al medio de fermentación, en una cantidad de 0,1 a 20% en masa

en términos de componente en sólidos no grasos. También, si el ácido usado está en forma de cristales, es preferible añadir una disolución acuosa del mismo al producto fermentado.

Según la presente invención, se puede añadir un material secundario al producto fermentado tras la terminación de la fermentación, a fin de coordinar el sabor, aroma, y la estabilidad de la conservación del mismo, en tanto que no deteriore el efecto de la presente invención. En tal caso, la adición de los materiales secundarios se puede llevar a cabo antes o después del ajuste del pH del producto fermentado. El tipo de materiales secundarios no está limitado particularmente en tanto que sean aplicables generalmente a los alimentos, y sus ejemplos comprenden diversos potenciadores del aroma y disoluciones azucaradas. También, se pueden usar al mismo tiempo uno o más tipos de materiales secundarios.

Además, es preferible disminuir la temperatura de los productos fermentados después de la terminación de la fermentación. Es posible suprimir de forma más eficaz durante la conservación los cambios en el sabor y aroma del alimento o bebida fermentada, reduciendo la temperatura del producto fermentado para detener la fermentación del medio. La temperatura en ese momento está preferentemente en el intervalo de 0 a 15ºC. Más específicamente, la temperatura del producto fermentado se puede reducir hasta 10ºC, por ejemplo después de cultivar a 30ºC. También, es preferible llevar a cabo el proceso de enfriamiento rápidamente después de la terminación de la fermentación.

Además, aunque el orden del ajuste del pH y el proceso de enfriamiento se pueden determinar arbitrariamente, es preferible llevar a cabo el proceso de enfriamiento antes del ajuste del pH teniendo en cuenta la estabilidad de conservación del alimento o bebida fermentada obtenida. Además, la adición mencionada anteriormente de materiales secundarios se puede realizar antes o después del proceso de enfriamiento.

El producto fermentado de la presente invención, cuyo pH se ha ajustado para que esté en el intervalo de 3,3 a 4,1, contiene las células vivas de *Lactobacillus brevis* de 1 x 10^8 cfu/ml o superior, y el número de células vivas no cambia significativamente incluso después de conservar a 10ºC durante 3 semanas. En consecuencia, se puede mantener un excelente sabor o aroma del alimento o bebida inmediatamente después de la fermentación del mismo.

También, el producto fermentado obtenido se puede usar directamente como un alimento o bebida fermentada. Como alternativa, se pueden añadir aditivos adecuados, si es necesario, o el producto se puede procesar apropiadamente para que sea un alimento o bebida fermentada.

El alimento o bebida fermentada de la presente invención se puede obtener usando los procedimientos descritos anteriormente. El alimento o bebida fermentada también es adecuado como pienso para animales.

Ejemplos

En lo sucesivo en la presente memoria, la presente invención se explicará con detalle haciendo referencia a los Ejemplos. Sin embargo, es manifiesto que la presente invención no está limitada a estos Ejemplos.

Los procedimientos para producir el alimento o bebida fermentada, y la evaluación de las características del alimento o bebida obtenida se explicarán a continuación.

• *Preparación de producto de precultivo*

Se disolvió medio comercialmente disponible para bacteria de ácido láctico (medio M.R.S, un producto de OXOID Limited) en agua destilada, de forma que su concentración fuese 62 g/l, y después se esterilizó usando un autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Después, se inocularon *Lactobacillus brevis* BP-4693 o *Lactobacillus brevis* JCM 1059 con el medio esterilizado, y éste se precultivó a 30ºC durante 18 horas.

• *Preparación de medio de fermentación (1)*

Se diluyó zumo de zanahoria concentrado de pH 5,5 y Brix. 42% con agua destilada para ajustar su pH hasta 5,7, el contenido de ácido málico hasta 0,3% en masa, y el Brix. hasta 12%. Después, el pH, el contenido de ácido málico, y el Brix. se ajustaron nuevamente como se muestra en las Tablas 1 y 2 (refiérase a "Condiciones para medio de fermentación"). En ese momento, como se muestra en las Tablas 1 y 2, se añadió leche desnatada a algunos de los Ejemplos, y se añadió leche desnatada y/o ácido glutámico a algunos de los Ejemplos Comparativos. Después, el medio de fermentación se preparó esterilizando en un autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Cuando se usó zumo de zanahoria claro como la materia prima vegetal, el zumo de zanahoria concentrado mencionado anteriormente se diluyó con agua destilada, y se sometió a un tratamiento de filtración con membrana UF usando un procedimiento conocido para obtener un zumo claro. Después, se ajustaron su pH, el contenido de ácido málico, y el Brix.

• *Preparación de medio de fermentación (2)*

Se diluyó zumo de tomate concentrado de pH 4,3 y Brix. 20% con agua destilada para ajustar su pH hasta 4,4, el contenido de fructosa hasta 2,5% en masa, y el Brix. hasta 12%. Después, el pH, el contenido de fructosa, y el Brix. se ajustaron nuevamente como se muestra en las Tablas 3 y 4 (refiérase a "Condiciones para medio de fermentación"). En ese momento, como se muestra en las Tablas 3 y 4, se añadió leche desnatada a algunos de los Ejemplos, y se añadió

leche desnatada y/o ácido glutámico a algunos de los Ejemplos Comparativos. Después, el medio de fermentación se preparó esterilizando en un autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Cuando se usó zumo de tomate claro como la materia prima vegetal, el zumo de tomate concentrado mencionado anteriormente se diluyó con agua destilada, y se sometió a un tratamiento de filtración con membrana UF usando un procedimiento conocido para obtener un zumo claro. Después, se ajustaron su pH, el contenido de fructosa, y el Brix.

• *Preparación de líquido fermentado vegetal*

Subsiguientemente, se inoculó un 1% en volumen del producto precultivado mencionado anteriormente con el medio de fermentación mencionado anteriormente, y se llevó a cabo el proceso de fermentación incubándolo a 30ºC durante 18 horas (108 horas para los Ejemplos Comparativos 2 y 2'). Después de terminar la incubación, el medio de fermentación obtenido se enfrió inmediatamente hasta 10ºC para obtener un líquido fermentado vegetal. El pH del líquido fermentado vegetal en cada uno de los Ejemplos y Ejemplos Comparativos fue como se muestra en las Tablas 1 a 4 (refiérase a "pH del medio después de la fermentación").

Obsérvese que el contenido de ácido málico o fructosa, y de leche (como un contenido de sólidos no grasos), mostrado en las Tablas 1 a 4, y el contenido de ácido glutámico mostrado en las Tablas 2 y 4 se describen usando la unidad de "% en masa" en cada medio. También, el contenido de leche o ácido glutámico representado por "x" indica que no se añadió leche ni ácido glutámico al medio.

• *Ajuste del pH del líquido fermentado vegetal*

Se disolvió en agua destilada ácido cítrico como ajustador del pH hasta 40% en masa, y se esterilizó en un autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Después, usando la disolución acuosa esterilizada de ácido cítrico, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó a los mostrados en las Tablas 1 a 4 (refiérase a "pH ajustado tras la fermentación"), y se obtuvo el líquido fermentado vegetal para cada uno de los Ejemplos y Ejemplos Comparativos. Después de eso, cada líquido fermentado vegetal de pH ajustado se colocó en un recipiente y se conservó a 10ºC durante tres semanas.

Obsérvese que en algunos de los Ejemplos Comparativos, el líquido fermentado vegetal se mantuvo sólo a 10ºC durante tres semanas sin llevar a cabo su ajuste del pH. Tales casos se representan mediante "x" en la sección de "Ajuste del pH tras la fermentación" en las Tablas 2 y 4.

• *Evaluación de las características*

El líquido fermentado vegetal, inmediatamente tras ajustar su pH (inmediatamente tras terminar la incubación si no se llevó a cabo ningún ajuste del pH), se conservó en un congelador. Después, se descongeló y se compararon sus características con las del líquido de fermentación mencionado anteriormente que se conservó a 10ºC, y se evaluaron por 25 hombres y 25 mujeres en total (Evaluación 1).

También, el líquido de fermentación mencionado anteriormente, que se conservó a 10ºC en cada uno de los Ejemplos y Ejemplos Comparativos, se comparó y evaluó por 25 hombres y 25 mujeres en total (Evaluación 2).

Los resultados se muestran en las Tablas 1 a 4. Obsérvese que también se muestra en las Tablas 1 a 4 el número de células vivas de *Lactobacillus brevis* en el líquido fermentado vegetal inmediatamente después de la fermentación y después de la conservación.

En lo siguiente, se explicarán las características del procedimiento de producción en cada uno de los Ejemplos y Ejemplos Comparativos.

Ejemplos 1-1 a 1-13

En estos Ejemplos, el pH y el contenido de ácido málico de zumo de zanahoria (Ejemplos 1-1 a 1-6, 1-10 a 1-13) y de zumo de zanahoria claro (Ejemplos 1-7 a 1-9), que se usaron como materia prima vegetal, se ajustaron para que fuesen los mostrados en la Tabla 1, y después su Brix. se ajustó hasta 12% (Ejemplos 1-1 a 1-12) o 7% (Ejemplo 1-13) para preparar el medio de fermentación. Seguidamente, se llevó a cabo la fermentación del medio usando *Lactobacillus brevis* BP-4693. El Ejemplo 1-2 se usó como Patrón 1, el Ejemplo 1-5 se usó como Patrón 2, el Ejemplo 1-8 se usó como Patrón 3, el Ejemplo 1-11 se usó como Patrón 4, y el Ejemplo 1-13 se usó como Patrón 5.

Ejemplos 2-1 a 2-4

En estos Ejemplos, cada medio de fermentación se preparó añadiendo leche al medio en una cantidad, como contenido de sólidos no grasos, mostrada en la Tabla 1. El Ejemplo 2-2 se usó como Patrón 6.

Ejemplos 3-1 a 3-3

En estos Ejemplos, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 a 4,1, como se muestra en la Tabla 1, y se conservó el líquido.

Ejemplos 4-1 a 4-3

En estos Ejemplos, cada medio de fermentación se preparó añadiendo 3% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 a 4,1, según se muestra en la Tabla 2.

Ejemplo 5

En este Ejemplo, la fermentación se realizó usando la cepa JCM 1059 de *Lactobacillus brevis*. Este Ejemplo se usó como Patrón 7.

Ejemplo 6

En este Ejemplo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y su fermentación se llevó a cabo usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059. Este Ejemplo se usó como Patrón 8.

Ejemplos Comparativos 1 y 2

En estos Ejemplos Comparativos, el líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH. En particular, en el Ejemplo Comparativo 2, el período de tiempo para la fermentación se prolongó hasta 108 horas, de forma que el grado de fermentación transcurriese hasta hacer que el pH del líquido fermentado vegetal fuese 4,0.

Ejemplos Comparativos 3-1 a 3-6

En estos Ejemplos Comparativos, cada medio de fermentación se preparó para incluir un contenido de ácido málico de 0,2% en masa o menos (Ejemplo Comparativo 3-1), de 2,0% en masa o más (Ejemplo Comparativo 3-2), o su pH se ajustó para que fuese 4,6 o menor (Ejemplos Comparativos 3-3 y 3-5) o 7,0 o mayor (Ejemplos Comparativos 3-4 y 3-6), y se llevó a cabo su proceso de fermentación. En particular, el Brix. en el medio de fermentación del Ejemplo Comparativo 3-1 se ajustó para que fuese 7%.

Ejemplo Comparativo 4

En este Ejemplo Comparativo, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 o menor, y se conservó el líquido.

Ejemplo Comparativo 5

En este Ejemplo Comparativo, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,1 o mayor, y se conservó el líquido.

Ejemplo Comparativo 6

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 o menor, y se conservó el líquido.

Ejemplo Comparativo 7

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,1 o mayor, y el líquido se conservó.

Ejemplo Comparativo 8

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 0,3% en masa de ácido glutámico.

Ejemplo Comparativo 9

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y 0,3% en masa de ácido glutámico.

Ejemplo Comparativo 10

En este Ejemplo Comparativo, la fermentación se realizó usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059, y el líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH.

Ejemplo Comparativo 11

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y la fermentación se realizó usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059. El líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH.

Ejemplos 1'-1 a 1'-10

En estos Ejemplos, el pH y el contenido de fructosa de zumo de tomate (Ejemplos 1'-1 a 1'-3, 1'-7 a 1'-10) y de zumo de tomate claro (Ejemplos 1'-4 a 1'-6), que se usaron como materia prima vegetal, se ajustaron para que fuesen los mostrados en la Tabla 3, y después su Brix. se ajustó hasta 12% (Ejemplos 1'-1 a 1'-9) o 5% (Ejemplo 1'-10) para preparar el medio de fermentación. Después, se llevó a cabo la fermentación del medio usando *Lactobacillus brevis* BP-4693. El Ejemplo 1'-2 se usó como Patrón 1', el Ejemplo 1'-5 se usó como Patrón 2', el Ejemplo 1'-8 se usó como Patrón 3', y el Ejemplo 1'-10 se usó como Patrón 4'.

Ejemplos 2'-1 a 2'-4

En estos Ejemplos, cada medio de fermentación se preparó añadiendo leche al medio en una cantidad, como contenido de sólidos no grasos, mostrada en la Tabla 3. El Ejemplo 2'-2 se usó como Patrón 5'.

Ejemplos 3'-1 a 3'-3

En estos Ejemplos, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 a 4,1, como se muestra en la Tabla 3, y el líquido se conservó.

Ejemplos 4'-1 a 4'-3

En estos Ejemplos, cada medio de fermentación se preparó añadiendo 3% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 a 4,1, como se muestra en la Tabla 3.

Ejemplo 5'

En este Ejemplo, la fermentación se realizó usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059. Este Ejemplo se usó como Patrón 6'.

Ejemplo 6'

En este Ejemplo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y su fermentación se llevó a cabo usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059. Este Ejemplo se usó como Patrón 7'.

Ejemplos Comparativos 1' y 2'

En estos Ejemplos Comparativos, el líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH., En el Ejemplo Comparativo 2', en particular, el período de tiempo para la fermentación se prolongó hasta 108 horas, para que el grado de fermentación transcurriese para hacer que el pH del líquido fermentado vegetal fuese 4,0.

Ejemplos Comparativos 3'-1 a 3'-6

En estos Ejemplos Comparativos, cada medio de fermentación se preparó para incluir un contenido de fructosa de 2,0% en masa o menos (Ejemplo Comparativo 3'-1), de 20,0% en masa o más (Ejemplo Comparativo 3'-2), o su pH se ajustó para que fuese 4,6 o menor (Ejemplos Comparativos 3'-3 y 3'-5) o 7,0 o mayor (Ejemplos Comparativos 3'-4 y 3'-6), y se llevó a cabo su proceso de fermentación. En particular, el Brix. en el medio de fermentación del Ejemplo Comparativo 3'-1 se ajustó para que fuese 5%.

Ejemplo Comparativo 4'

En este Ejemplo Comparativo, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 o menor, y el líquido se conservó.

Ejemplo Comparativo 5'

En este Ejemplo Comparativo, el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,1 o mayor, y el líquido se conservó.

Ejemplo Comparativo 6'

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 3,3 o menor, y el líquido se conservó.

Ejemplo Comparativo 7'

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,1 o mayor, y el líquido se conservó.

Ejemplo Comparativo 8'

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 0,3% en masa de ácido glutámico.

Ejemplo Comparativo 9'

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como un contenido de sólidos no grasos, y 0,3% en masa de ácido glutámico.

Ejemplo Comparativo 10'

En este Ejemplo Comparativo, la fermentación se realizó usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059, y el líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH.

Ejemplo Comparativo 11'

En este Ejemplo Comparativo, el medio de fermentación se preparó añadiendo 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos, y la fermentación se realizó usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059. El líquido fermentado vegetal se conservó sin ajustar su pH.

• *Resultados de la evaluación*

De los resultados de los Ejemplos 1-1 a 1-12, no se observaron diferencias significativas en las evaluaciones de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC. Tampoco había diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras en las que el pH del líquido fermentado vegetal fue 4,4 ó 6,8 y las muestras de los Patrones 1 a 4 en los que el pH del líquido fermentado vegetal fue 4,8, para los casos en los que el contenido de ácido málico del medio de fermentación fue 0,3, 0,5, 1,0 ó 1,8% en masa, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma, y capacidad de conservación.

Además, aunque el sabor, aroma y capacidad de conservación de cualquiera de las muestras de los Patrones 1 a 4 fueron excelentes, se encontró que la muestra del Patrón 1, en la que el contenido de ácido málico en el medio de fermentación fue 0,3% en masa y tuvo la menor cantidad de contenido de ácido carbónico en el líquido fermentado vegetal, era la más preferible en términos de sus características, con menos estimulación de la lengua. Las muestras distintas de la del Patrón 1 se ordenaron por orden de preferencia como Patrón 2, Patrón 3 y Patrón 4.

Por otro lado, de los resultados del Ejemplo 1-13, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC para el caso en el que el Brix. fue 7%.

De los resultados de los Ejemplos 2-1 a 2-4, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando la cantidad de leche añadida al medio de fermentación se cambió en el intervalo de 0,2 a 20,0% en masa como contenido de sólidos no grasos, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación.

De los resultados de los Ejemplos 3-1 a 3-3, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó en el intervalo de 3,3 a 4,1, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación. Tampoco se observaron diferencias significativas cuando se comparan con la muestra del Patrón 1 en la que el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,0.

De los resultados de los Ejemplos 4-1 a 4-3, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando se añadió 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos al medio de fermentación y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó en el intervalo de 3,3 a 4,1, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación. Tampoco se observaron diferencias significativas cuando se comparan con la muestra del Patrón 6 en la que el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,0.

De los resultados de los Ejemplos 5 y 6, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando la fermentación se llevó a cabo usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059 independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 1, se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, y aquellas se observaron también cuando se compara con la muestra del Patrón 1. Su sabor y aroma no fueron satisfactorios. Esto fue debido a que, como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación y del número después de la conservación, la fermentación había transcurrido durante la conservación, puesto que el líquido fermentado vegetal se conservó al pH de 4,8 que estaba sin ajustar.

También, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 2, aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, se observaron diferencias, similares a las de la muestra del Ejemplo Comparativo 1, según se compara con la muestra del Patrón 1. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa inmediatamente después de la fermentación. Esto fue debido al grado elevado de fermentación del líquido fermentado vegetal.

Con respecto a las muestras de los Ejemplos Comparativos 3-1 a 3-6, aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, se observaron diferencias para la muestra del Ejemplo Comparativo 3-1 según se compara con la muestra del Patrón 5, y para la muestra del Ejemplo Comparativo 3-2 según se compara con el Ejemplo del Patrón 1. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido a que el contenido de ácido málico en el medio de fermentación estaba fuera del intervalo de 0,2 a 2,0% en masa. La causa de esto en el Ejemplo Comparativo 3-1 es el bajo grado de fermentación debido al bajo contenido de ácido málico, como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, y la causa en el Ejemplo Comparativo 3-2 es la mayor cantidad de subproducto salino producido debido a que se usa una mayor cantidad de carbonato de potasio para ajustar el pH del medio antes de la fermentación, que tenía un contenido elevado de ácido málico.

También, las muestras de los Ejemplos Comparativos 3-3 y 3-4 mostraron una diferencia significativa en la evaluación de las características según se comparan con la muestra del Patrón 1, y las muestras de los Ejemplos Comparativos 3-5 y 3-6 mostraron una diferencia significativa en la evaluación de las características según se comparan con la muestra del Patrón 4. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido a que el pH del medio de fermentación antes de la fermentación estaba fuera del intervalo de 4,6 a 7,0. Como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, el grado de fermentación en los Ejemplos Comparativos 3-3 y 3-5 fue bajo, debido al bajo valor del pH. También, como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, el grado de fermentación en los Ejemplos Comparativos 3-4 y 3-6 fue bajo debido al elevado valor del pH, y a la mayor cantidad de subproducto salino producido debido a que se usó una mayor cantidad de carbonato de potasio para ajustar el pH del medio antes de la fermentación, y de ácido cítrico usado para ajustar el pH del líquido de fermentación vegetal.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 4, aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 1. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. De forma similar, el sabor y aroma de la muestra del Ejemplo Comparativo 6 ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación.

Por otro lado, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 5, se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 1. En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación. De forma similar, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 7, se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características según se compara con la muestra del Patrón 6. En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación.

Esto fue debido al pH ajustado del líquido de fermentación vegetal, independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, que estaba fuera del intervalo de 3,3 a 4,1. En los Ejemplos Comparativos 4 y 6, la acidez de la muestra se hizo tan fuerte en la etapa antes de la conservación debido a su bajo pH. Además de eso, el número de células vivas también disminuyó durante la conservación en esos Ejemplos Comparativos. Por otro lado, en los Ejemplos Comparativos 5 y 7, su fermentación llegó demasiado lejos durante la conservación, debido al elevado pH.

Con respecto a las muestras de los Ejemplos Comparativos 8 y 9, aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, se observaron diferencias para la muestra del Ejemplo Comparativo 8 según se compara con la muestra del Patrón 1 y para la muestra del Ejemplo Comparativo 9 según se compara con la muestra del Patrón 6. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido al ácido glutámico que queda en el líquido de fermentación vegetal que se añadió al medio de fermentación, independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, y a la producción de ácido γ-aminoláctico (GABA) por *Lactobacillus brevis* BP-4693 durante la fermentación.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 10, se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 7. Además, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 11, se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 8. En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación. Esto fue provocado por el progreso de la fermentación durante la conservación, puesto que, aunque se usó *Lactobacillus brevis* BPJCM1059, el líquido de fermentación vegetal se conservó sin ajustar su pH.

A partir de los resultados de los Ejemplos 1'-1 a 1'-9, no se observaron diferencias significativas en las evaluaciones de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC. Tampoco hubo diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras en las que el pH del líquido fermentado vegetal fue 4,4 ó 6,8 y las muestras de los Patrones 1', 2' y 3' en las que el pH del líquido fermentado vegetal fue 4,8, para los casos en los que el contenido de fructosa del medio de fermentación fue 2,5, 10,0 ó 18,0% en masa, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma, y capacidad de conservación.

Por otro lado, a partir de los resultados del Ejemplo 1'-10, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC para el caso en el que el Brix. fue 5%.

De los resultados de los 2'-1 a 2'-4, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando la cantidad de leche añadida al medio de fermentación se cambió en el intervalo de 0,2 a 20,0% en masa como contenido de sólidos no grasos, y se confirmó que todas las muestras tenían un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación.

De los resultados de los Ejemplos 3'-1 a 3'-3, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó en el intervalo de 3,3 a 4,1, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación. Tampoco se observaron diferencias significativas cuando se comparan con la muestra del Patrón 1' en la que el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,0.

De los resultados de los Ejemplos 4'-1 a 4'-3, no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando se añadió al medio de fermentación 3,0% en masa de leche como contenido de sólidos no grasos y el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó en el intervalo de 3,3 a 4,1, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación. Tampoco se observaron diferencias significativas cuando se comparan con la muestra del Patrón 5' en la que el pH del líquido fermentado vegetal se ajustó para que fuese 4,0.

De los resultados de los Ejemplos 5' y 6', no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC cuando la fermentación se llevó a cabo usando *Lactobacillus brevis* JCM 1059 independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, y se confirmó que todas las muestras tuvieron un excelente sabor, aroma y capacidad de conservación.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 1', se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, y aquellas también se observaron según se compara con la muestra del Patrón 1'. Su sabor y aroma no fueron satisfactorios. Esto es debido a que, como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación y del número después de la conservación, la fermentación había transcurrido durante la conservación puesto que el líquido fermentado vegetal se conservó al pH de 4,8 que no estaba ajustado.

Asimismo, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 2', aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, se observaron diferencias, similares a las de la muestra del Ejemplo Comparativo 1', cuando se compara con la muestra del Patrón 1'. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa inmediatamente después de la fermentación. Esto fue debido al alto grado de fermentación del líquido fermentado vegetal.

Con respecto a las muestras de los Ejemplos Comparativos 3'-1 a 3'-6, aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre las muestras crioconservadas y las muestras conservadas a 10ºC, se observaron diferencias para la muestra del Ejemplo Comparativo 3'-1 según se compara con la muestra del Patrón 4', y para la muestra del Ejemplo Comparativo 3'-2 según se compara con la muestra del Patrón 1'. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido a que el contenido de fructosa en el medio de fermentación estaba fuera del intervalo de 2,0 a 20,0% en masa. La causa de esto en el Ejemplo Comparativo 3'-1 es el bajo grado de fermentación debido al bajo contenido de fructosa como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, y la causa en el Ejemplo Comparativo 3'-2 es la gran cantidad de fructosa que da demasiada dulzura.

Asimismo, las muestras de los Ejemplos Comparativos 3'-3 y 3'-4 mostraron una diferencia significativa en la evaluación de las características según se comparan con la muestra del Patrón 1', y las muestras de los Ejemplos Comparativos 3'-5 y 3'-6 mostraron una diferencia significativa en la evaluación de las características según se comparan con la muestra del Patrón 3'. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido a que el pH del medio de fermentación antes de la fermentación estaba fuera del intervalo de 4,6 a 7,0. Como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, el grado de fermentación en los Ejemplos Comparativos 3'-3 y 3'-5 fue bajo debido al elevado valor del pH. También, como es obvio a partir del número de células inmediatamente después de la fermentación, el grado de fermentación en los Ejemplos Comparativos 3'-4 y 3'-6 fue bajo debido al bajo valor del pH, y a la mayor cantidad de producto salino producido debido a que se usó una mayor cantidad de carbonato de potasio para ajustar el pH del medio antes de la fermentación, y de ácido cítrico usado para ajustar el pH del líquido de fermentación vegetal.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 4', aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 1'. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. De forma similar, el sabor y aroma de la muestra del Ejemplo Comparativo 6' ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación.

Por otro lado, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 5', se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 1'. En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación. De forma similar, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 7', se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características según se compara con la muestra del Patrón 5'. En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación.

Esto fue debido al pH ajustado del líquido de fermentación vegetal, independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, que estaba fuera del intervalo de 3,3 a 4,1. En los Ejemplos Comparativos 4' y 6', la acidez de la muestra fue demasiado fuerte en la etapa antes de la conservación debido a su bajo pH. Además de eso, el número de células vivas también disminuyó durante la conservación en esos Ejemplos Comparativos. Por otro lado, en los Ejemplos Comparativos 5' y 7', su fermentación fue demasiado lejos durante la conservación debido al elevado pH.

Con respecto a las muestras de los Ejemplos Comparativos 8' y 9', aunque no se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, se observaron diferencias para la muestra del Ejemplo Comparativo 8' según se compara con la muestra del Patrón 1' y para la muestra del Ejemplo Comparativo 9' según se compara con la muestra del Patrón 5'. Su sabor y aroma ya no fueron satisfactorios en la etapa antes de la conservación. Esto fue debido al ácido glutámico que queda en el líquido de fermentación vegetal que se añadió al medio de fermentación, independientemente de la adición de leche al medio de fermentación, y a la producción de ácido γ-aminoláctico (GABA) por *Lactobacillus brevis* BP-4693 durante la fermentación.

Con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 10', se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 6'. Además, con respecto a la muestra del Ejemplo Comparativo 11', se observaron diferencias significativas en la evaluación de las características entre la muestra crioconservada y la muestra conservada a 10ºC, y también se observaron diferencias según se compara con la muestra del Patrón 7'.

En consecuencia, se confirmó que su sabor y aroma cambiaron durante la conservación. Esto fue provocado por el progreso de la fermentación durante la conservación, puesto que, aunque se usó *Lactobacillus brevis* BPJCM1059, el líquido de fermentación vegetal se conservó sin ajustar su pH.

TABLA 1

	Proceso							
	Condiciones para el medio de fermentación					Cepa	pH del medio después de la fermentación	pH ajustado después de la fermentación
	Materia prima vegetal	Ácido málico (% en masa)	Leche (comp. de sólidos no grasos) (% en masa)	pH	Ácido glutámico (% en masa)			
Ej. 1								
1-1	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1-2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1-3	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1-4	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,5%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1-5	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1-6	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,5%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1-7	Zumo de zanahoria claro, Brix. 12	1,0%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1-8	Zumo de zanahoria claro, Brix. 12	1,0%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1-9	Zumo de zanahoria claro, Brix. 12	1,0%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1-10	Zumo de zanahoria, Brix. 12	1,8%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1-11	Zumo de zanahoria, Brix. 12	1,8%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1-12	Zumo de zanahoria, Brix. 12	1,8%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1-13	Zumo de zanahoria, Brix. 7	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
Ej. 2								
2-1	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	0,2%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
2-2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0

TABLA 1 (continuación)

	Proceso							
	Condiciones para el medio de fermentación					Cepa	pH del medio después de la fermentación	pH ajustado después de la fermentación
	Materia prima vegetal	Ácido málico (% en masa)	Leche (comp. de sólidos no grasos) (% en masa)	pH	Ácido glutámico (% en masa)			
Ej. 1								
2-3	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	15,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
2-4	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	20,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
Ej. 3								
3-1	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,3
3-2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,6
3-3	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,1

TABLA 1 (continuación)

	Efecto			
	Nº de células inmediatamente después de la fermentación (cfu/ml)	Nº de células después de la conservación (cfu/ml)	Evaluación de las características después de la conservación	
			Evaluación 1	Evaluación 2
Ej. 1				
1-1	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón1
1-2	$5x10_8$	$5x\ 10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 1
1-3	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
1-4	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 2

TABLA 1 (continuación)

1-5	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 2
1-6	5×10^8	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 2
1-7	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 3
1-8	$5x10^8$	$5 x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 3
1-9	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 3
1-10	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 4
1-11	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 4
1-12	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 4
1-13	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 5
Ej. 2				
2-1	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	-
2-2	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 6
2-3	$7x10^8$	$7x10^8$	Ninguna diferencia significativa	-
2-4	$7x10^8$	$7x10^8$	Ninguna diferencia significativa	-

TABLA 1 (continuación)

Ej. 3				
3-1	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
3-2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
3-3	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1

TABLA 2

	Proceso							
	Condiciones para el medio de fermentación					Cepa	pH del medio después de la fermentación	pH ajustado después de la fermentación
	Materia prima vegetal	Ácido málico (% en masa)	Leche (comp. de sólidos no grasos) (% en masa)	pH	Ácido glutámico (% en masa)			
Ej. 4								
4-1	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,3
4-2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,6
4-3	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,1
Ej. 5	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	JCM 1059	4,8	4,0
Ej. 6	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	JCM 1059	4,5	4,0
Ej. Comp. 1	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	x
Ej. Comp. 2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,0	x
Ej. Comp. 3								
3-1	Zumo de zanahoria, Brix. 7	0,18%	x	5,0	x	HP-4693	5,0	4,0
3-2	Zumo de zanahoria, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,7	4,0
3-3	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	4,2	x	BP-4693	4,2	4,0

TABLA 2 (continuación)

3-4	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	7,5	x	BP-4693	7,5	4,0
3-5	Zumo de zanahoria, Brix. 12	1,8%	x	4,2	x	BP-4693	4,2	4,0
3-6	Zumo de zanahoria, Brix. 12	1,8%	x	7,5	x	BP-4693	7,5	4,0
Ej. Comp. 4	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,0
Ej. Comp. 5	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,5
Ej. Comp. 6	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,0
Ej. Comp. 7	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,5
Ej. Comp. 8	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	0,3%	BP-4693	4,8	4,0
Ej. Comp. 9	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	0,3%	BP-4693	4,5	4,0
Ej. Comp. 10	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	x	5,0	x	JCM1059	4,8	x
Ej. Comp. 11	Zumo de zanahoria, Brix. 12	0,3%	3,0%	5,0	x	JCM1059	4,5	x

TABLA 2 (continuación)

	Efecto			
	Nº de células inmediatamente después de la fermentación (cfu/ml)	Nº de células después de la conservación (cfu/ml)	Evaluación de las características después de la conservación	
			Evaluación 1	Evaluación 2
Ej. 4				
4-1	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 6
4-2	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 6

TABLA 2 (continuación)

4-3	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 6
Ej. 5	$1x10^8$	$1x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 7
Ej. 6	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 8
Ej. Comp. 1	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
Ej. Comp. 2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
Ej. Comp. 3				
3-1	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 5
3-2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
3-3	$1x10^7$	$1x16^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
3-4	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
3-5	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 4
3-6	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 4
Ej. Comp. 4	$5x10^8$	$2x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
Ej. Comp. 5	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1
Ej. Comp. 6	$1x10^9$	$5x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 6

TABLA 2 (continuación)

Ej. Comp. 7	$1x10^9$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 6
Ej. Comp. 8	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón I
Ej. Comp. 9	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 6
Ej. Comp. 10	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 7
Ej. Comp. 11	$1x10^9$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 8

TABLA 3

	Proceso							
	Condiciones para el medio de fermentación					Cepa	pH del medio después de la fermentación	pH ajustado después de la fermentación
	Materia prima vegetal	Ácido málico (% en masa)	Leche (comp. de sólidos no grasos) (% en masa)	pH	Ácido glutámico (% en masa)			
Ej. 1'								
1'-1	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1'-2	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1'-3	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1'-4	Zumo de tomate claro, Brix. 12	10,0%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1'-5	Zumo de tomate claro, Brix. 12	10,0%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1'-6	Zumo de tomate claro, Brix. 12	10,0%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0
1'-7	Zumo de tomate, Brix. 12	18,0%	x	4,6	x	BP-4693	4,4	4,0
1'-8	Zumo de tomate, Brix. 12	18,0%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
1'-9	Zumo de tomate, Brix. 12	18,0%	x	7,0	x	BP-4693	6,8	4,0

TABLA 3 (continuación)

1'-10	Zumo de tomate, brix 5	2,5%	x	4,6	x	BP-4693	4,8	4,0
Ej. 2'								
2'-1	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	0,2%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
2'-2	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
2'-3	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	15,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
2'-4	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	20,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,0
Ej. 3'								
3'-1	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,3
3'-2	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,6
3'-3	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,1

TABLA 3 (continuación)

	Efecto			
	Nº de células inmediatamente después de la fermentación (cfu/ml)	Nº de células después de la conservación (cfu/ml)	Evaluación de las características después de la conservación	
			Evaluación 1	Evaluación 2
Ej. 1'				
1'-1	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón I'
1'-2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 1'
1'-3	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón I'
1'-4	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 2'
1'-5	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 2'

TABLA 3 (continuación)

1'-6	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 2'
1'-7	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 3'
1'-8	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 3'
1'-9	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 3'
1'-10	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 4'
Ej. 2'				
2'-1	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	-
2'-2	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 5'
2'-3	$7x10^8$	$7x10^8$	Ninguna diferencia significativa	-
2'-4	$7x10^8$	$7 x10^8$	Ninguna diferencia significativa	-
Ej. 3'				
3'-1	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
3'-2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
3'-3	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'

TABLA 4

	Proceso							
	Condiciones para el medio de fermentación					Cepa	pH del medio después de la fermentación	pH ajustado después de la fermentación
	Materia prima vegetal	Ácido málico (% en masa)	Leche (comp. de sólidos no grasos) (% en masa)	pH	Ácido glutámico (% en masa)			
Ej. 4'								
4'-1	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,3
4'-2	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,6
4'-3	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,1
Ej. 5'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	JCM-1059	4,8	4,0
Ej. 6'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	JCM-1059	4,5	4,0
Ej. Comp. 1'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	x
Ej. Comp. 2'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,0	x
Ej. Comp. 3'								
3'-1	Zumo de tomate, Brix. 12	1,0%	x	5,0	x	BP-4693	5,0	4,0
3'-2	Zumo de tomate, Brix. 12	25,0%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,0
3'-3	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	4,2	x	BP-4693	4,2	4,0
3'-4	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x-	7,5	x	BP-4693	7,5	4,0
3'-5	Zumo de tomate, Brix. 12	18,0%	x	4,2	x	BP-4693	4,2	4,0
3'-6	Zumo de tomate, Brix. 12	18,0%	x	7,5	x	BP-4693	7,5	4,0
Ej. Com. 4'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	3,0
Ej. Comp. 5'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	BP-4693	4,8	4,5

TABLA 4 (continuación)

Ej. Comp. 6'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	3,0
Ej. Comp. 7'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	BP-4693	4,5	4,5
Ej. Comp. 8'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	0,3%	BP-4693	4,8	4,0
Ej. Comp. 9'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	0,3%	BP-4693	4,5	4,0
Ej. Comp. 10'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	x	5,0	x	JCM-1059	4,8	x
Ej. Comp. 11'	Zumo de tomate, Brix. 12	2,5%	3,0%	5,0	x	JCM-1059	4,5	x

TABLA 4 (continuación)

	Efecto			
	Nº de células inmediatamente después de la fermentación (cfu/ml)	Nº de células después de la conservación (cfu/ml)	Evaluación de las características después de la conservación	
			Evaluación 1	Evaluación 2
Ej. 4'				
4'-1	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
4'-2	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
4'-3	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Ninguna diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
Ej. 5'	1×10^8	$1x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 6'
Ej. 6'	$5x\ 10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Patrón 7'

TABLA 4 (continuación)

Ej. Comp. 1'	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
Ej. Comp. 2'	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
Ej. Comp. 3'				
3'-1	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 4'
3'-2	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón I'
3'-3	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
3'-4	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
3'-5	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 3'
3'-6	$1x10^7$	$1x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 3'
Ej. Comp. 4'	$5x10^8$	$2x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
Ej. Comp. 5'	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón I'
Ej. Comp. 6'	$1x10^9$	$5x10^7$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
Ej. Comp. 7'	$1x10^9$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
Ej. Comp. 8'	$5x10^8$	$5x10^8$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 1'
Ej. Comp. 9'	$1x10^9$	$1x10^9$	Ninguna diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 5'
Ej. Comp. 10	$5x10^8$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 6'
Ej. Comp. 11	$1x10^9$	$1x10^9$	Diferencia significativa	Diferencia significativa en comparación con el Patrón 7'

A partir de los resultados mostrados anteriormente, se confirmó que el producto alimenticio o de bebida fermentados producido mediante el procedimiento de la presente invención tiene un excelente sabor y aroma, y posee un número de células vivas de *Lactobacillus brevis* de 1 x 10^8 cfu/ml o mayor. También, el número de células vivas no cambia después de conservarlo a 10ºC durante tres semanas, y el excelente sabor y aroma del alimento o bebida fermentada no cambia.

Aplicabilidad industrial

Según la presente invención, es posible proporcionar un alimento o bebida fermentada que tenga excelente sabor, aroma y capacidad de conservación, que contenga células vivas de bacteria de ácido láctico para mejorar la salud.

Habiendo descrito de este modo realizaciones ejemplares de la invención, resultará evidente para los expertos en la materia que se pueden producir fácilmente diversas alteraciones, modificaciones y mejoras. Dichas alteraciones, modificaciones y mejoras, aunque no descritas expresamente anteriormente, están destinadas e insinuadas no obstante a estar comprendidas dentro del espíritu y alcance de la invención. En consecuencia, la descripción anterior pretende ser solamente ilustrativa: la invención está limitada y definida únicamente por las siguientes reivindicaciones y equivalentes de las mismas.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados, **caracterizado** porque el procedimiento comprende:

añadir una cepa de bacteria de ácido láctico que pertenece a *Lactobacillus brevis* a un medio cuyo pH se ha ajustado a 4,6 hasta 7,0, comprendiendo dicho medio: una materia prima vegetal en una cantidad de 50% o más convertida en un zumo de la misma; y 0,2 a 2,0% en masa de ácido málico o 2,0 a 20,0% en masa de fructosa, a fin de fermentar dicho medio de forma que el pH de dicho medio sea 4,3 o mayor e inferior a 7,0; y

ajustar el pH de un producto fermentado hasta 3,3 a 4,1 usando un ácido.

2. Procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el procedimiento comprende además: reducir la temperatura de dicho producto fermentado.

3. Procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque dicha cepa de bacteria de ácido láctico que pertenece a *Lactobacillus brevis* es la cepa FERM BP4693 de *Lactobacillus brevis*.

4. Procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque dicho medio comprende además 0,1 a 20% en masa, como un contenido de sólidos no grasos de leche.

5. Procedimiento para producir un producto alimenticio o de bebida fermentados según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque dicho medio contiene 0,2 a 0,45% en masa de ácido málico.

6. Producto alimenticio o de bebida fermentado, **caracterizado** porque dicho producto se produce mediante el procedimiento descrito en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

7. Producto alimenticio o de bebida fermentados según la reivindicación 6, **caracterizado** porque dicho producto se usa para pienso para animales.