

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 024 476**

51 Int. Cl.:

A61K 35/741 (2015.01)

A61K 35/742 (2015.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 3/00 (2006.01)

C12P 7/52 (2006.01)

C12P 7/56 (2006.01)

C12P 7/64 (2012.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.11.2017** **PCT/US2017/060508**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.11.2018** **WO18217228**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.11.2017** **E 17910828 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2025** **EP 3638275**

54 Título: **Composiciones para bebidas que contienen Bacillus coagulans MTCC 5856**

30 Prioridad:

26.05.2017 US 201762511412 P

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

04.06.2025

73 Titular/es:

SAMI LABS LIMITED (100.00%)
19 1 and 19 2 1st Main 2nd Phase Peenya
Industrial Area, Bangalore Karnataka
Bangalore 560058, IN

72 Inventor/es:

MAJEED, MUHAMMED;
NAGABHUSHANAM, KALYANAM;
MAJEED, SHAHEEN;
ARUMUGAM, SIVAKUMAR y
ALI, FURQAN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 3 024 476 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones para bebidas que contienen *Bacillus coagulans* MTCC 5856

5 Campo de la invención

La presente invención en general se refiere a probióticos. Más específicamente, la presente invención se refiere a una bebida que comprende el probiótico *Bacillus coagulans* cepa MTCC 5856.

10 Descripción del estado de la técnica

Los probióticos están ganando importancia como suplemento dietético debido a su capacidad para modificar la microflora intestinal, lo que produce mayores beneficios para la salud. Estos probióticos pueden sobrevivir a los ambientes ácidos del estómago y el intestino delgado, pero no se observa que colonicen el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, existe la necesidad de suplementar constantemente los probióticos para que persistan los beneficios terapéuticos.

Las bebidas son componentes alimentarios muy consumidos y pueden considerarse una fuente para coadministrar probióticos. Debe tenerse en cuenta que las composiciones de bebidas se someten a tratamientos en condiciones extremas de estrés, temperatura y presión, como la preparación o la aireación, en donde la viabilidad de las esporas probióticas debe mantenerse tras el tratamiento para que su administración tenga éxito. Majeed, M. *et al.*, (2016), *Evaluation of the stability of Bacillus coagulans MTCC 5856 during processing and storage of functional foods*. Int J Food Sci Technol, 51: 894-901 se refiere la viabilidad del *Bacillus coagulans* MTCC 5856 durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos funcionales. El documento divulga una bebida obtenida a partir de la preparación de una composición que comprende *Bacillus coagulans* MTCC 5856. Como se muestra en la página 896, subsección "Café preparado", el café en polvo se mezcló con esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 a temperatura ambiente y posteriormente se añadió al agua precalentada a 90 °C durante 2 min, seguido de una incubación a 77 °C durante cuatro horas. Como se muestra en la página 897, subsección "Café preparado" y en la página 898, Fig. 1, la viabilidad del *Bacillus coagulans* MTCC 5856 mostró una reducción del 13% en la viabilidad ya 2 min después de la preparación. Además, la incubación posterior a 77 °C provocó una reducción de la viabilidad del 30% y del 34% al cabo de tres y cuatro horas, respectivamente. US 2016/0058805 A1 describe (i) la actividad promotora del crecimiento de fibras naturales de origen vegetal sobre *Bacillus coagulans* MTCC 5856; (ii) la combinación de fibras naturales de origen vegetal y *Bacillus coagulans* MTCC 5856 para inhibir bacterias patógenas gram-negativas y (iii) la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por *Bacillus coagulans* MTCC 5856 utilizando fibras naturales de origen vegetal. US 2012/0251512 A1 se refiere a una composición nutricional deportiva que comprende una fuente proteica y una espora aislada de *Bacillus coagulans*. US 2015/0313951 A1 se refiere a una composición que comprende un producto similar a la leche no láctea y una espora aislada de *Bacillus coagulans*.

La solicitud de patente de Estados Unidos 20090232941 divulga una composición para bebidas que comprende las cepas GBI-30, GBI-20 y GBI-40 de *Bacillus coagulans*. La solicitud de patente de Estados Unidos 20130295226 divulga una composición de bebida de fruta que comprende *Lactobacillus paracasei*. Estas dos solicitudes no divulgan el método de preparación ni la supervivencia de las bacterias probióticas en condiciones adversas. Sin embargo, es bien sabido en la técnica científica que los efectos biológicos de los probióticos o de sus productos son específicos de cada cepa y no pueden generalizarse entre géneros, especies y cepas (Probiotics: In Depth/NCCIH, Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Institutos Nacionales de Salud). Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de encontrar una cepa probiótica que sea más eficaz y viable cuando se somete a condiciones extremas de estrés, temperatura y presión.

La presente invención resuelve el problema técnico anterior dando a conocer una cepa probiótica que es viable y eficaz cuando se coadministra con bebidas.

El objetivo principal de las invenciones es divulgar composiciones para bebidas que comprendan *Bacillus coagulans* MTCC 5856, en donde la viabilidad de las esporas se mantenga tras los tratamientos.

La presente invención cumple los objetivos antes mencionados y proporciona otras ventajas relacionadas.

Breve descripción de la invención

La presente invención da a conocer composiciones de bebidas que han sido sometidas a tratamientos en condiciones extremas de estrés, temperatura y presión, como la preparación o la aireación y que comprenden esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 y fibras prebióticas solubles en agua en donde la viabilidad de las esporas se mantiene tras dichos tratamientos.

65 Descripción de las realizaciones más preferidas

En una realización principal, la presente invención da a conocer una bebida como la especificada en la reivindicación 1, cuya bebida se obtiene mediante la preparación de una composición que comprende *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en forma de esporas. La bebida es el té. Comprende *Bacillus coagulans* en forma de esporas y células vegetativas viables, eliminadas por calor o lisadas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

Una realización no cubierta por la invención es una composición de café que comprende *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en forma de esporas y bacterias, en donde dicha espora bacteriana es termorresistente teniendo más de un 95% de viabilidad tras la preparación del café. En una realización relacionada no cubierta por la invención, el café se selecciona del grupo que consiste en café descafeinado, café verde sin tostar y café tostado. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, las esporas incluyen esporas viables, eliminadas por calor o muertas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, la bacteria incluye células vegetativas viables, eliminadas por calor, muertas o lisadas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

El té incluye té verde, té negro, té oolong, té amarillo, té blanco o té descafeinado, té de hierbas seleccionado del grupo que consiste en té de rosa mosqueta, té de manzanilla, té jiaogulan, té de menta, té rooibos, té de jengibre, té de ginseng o té de hierba limón.

En otra realización no cubierta por la invención, la bebida es jugo de fruta. El componente frutal del jugo de fruta se selecciona del grupo que consiste en naranja, manzana, pera, fresa, frambuesa, arándano, mora azul, albaricoque, piña, durazno, plátano, mango, lima, uva, tomate, granada, papaya, agua de coco tierno, kiwi y una mezcla de frutas.

Otra realización preferida no cubierta por la invención es una composición de soda carbonatada que comprende *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en forma de esporas y bacterias, en donde dicha espora bacteriana tiene la capacidad de sobrevivir a la aireación. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, las esporas incluyen esporas viables, eliminadas por calor o muertas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, la bacteria incluye células vegetativas viables, eliminadas por calor, muertas o lisadas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

En otra realización preferida, la composición comprende una fibra prebiótica soluble en agua.

Otra realización no cubierta por la invención es una composición de café sinérgica que comprende una fibra soluble en agua prebiótica y *Bacillus coagulans* en forma de esporas y bacterias, en donde dicha espora bacteriana es termorresistente y tiene más de un 95% de viabilidad tras la preparación del café. En una realización relacionada no cubierta por la invención, el café incluye el café descafeinado, el café verde sin tostar y el café tostado. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, la fibra prebiótica soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS), inulina y polidextrosa. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, las esporas incluyen esporas viables, eliminadas por calor o muertas de *Bacillus coagulans*. En otra realización relacionada no cubierta por la invención, la bacteria incluye células vegetativas viables, eliminadas por calor, muertas o lisadas de *Bacillus coagulans*. En una realización relacionada preferible no cubierta por la invención, la cepa de *Bacillus coagulans* es preferiblemente *Bacillus coagulans* MTCC 5856 y también las cepas derivadas de *Bacillus coagulans* cepa Hammer, número de acceso ATCC 31284 y ATCC 7050.

En otra realización relacionada de la invención, la fibra prebiótica soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS), inulina y polidextrosa.

Las realizaciones más preferidas anteriormente mencionadas que incorporan las características técnicas y los efectos técnicos de la presente invención se explican a través de ejemplos ilustrativos en la presente.

Ejemplo 1: Métodos empleados para preparar café (no según la invención) y té con *Bacillus coagulans* MTCC 5856

Estabilidad de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 durante la preparación del café (no según la invención)

La preparación comercial de esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 se estandarizó a 15×10^9 ufc (esporas) por gramo y se añadió a café verde sin tostar molido o a café tostado, y se mezcló a temperatura ambiente con baja r.p.m. durante 60 min. Además, se añadieron 1,0 g de fibras prebióticas solubles en agua (fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, inulina y polidextrosa) a 4,0 gm de café verde sin tostar o café tostado, y se mezclaron a temperatura ambiente con baja r.p.m. durante 60 min (**Tabla 1**). Se elaboraron aproximadamente 5,0 g de las composiciones utilizando un infusor eléctrico y se probó el recuento de esporas viables según el método descrito anteriormente (Majeed *et al.*, World J Microbiol Biotechnol (2016) 32:60). Los promedios de los recuentos de esporas viables se expresan en log₁₀ UFC.

Tabla 1. Formulación de bebidas de café

Formulación	<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856 (15 × 10 ⁹ esporas/gm)	#Excipiente de café y bebidas + Fibra prebiótica* (gramos)	Peso total por ración
01	0,144 g	3,96 + 0,04 + 0,0	5,144
02	0,072 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,072
03	0,144 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,144
04	0,288 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,288
#En donde el café es grano verde sin tostar y grano tostado.			
*En donde las fibras prebióticas son FOS, GOS, inulina y povidextrona			

Estabilidad de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 durante la preparación del té (té negro, verde y oolong)

El preparado comercial de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 se estandarizó a 15 × 10⁹ ufc (esporas) por gramo y se añadió a té negro, verde u oolong y se mezcló a temperatura ambiente con baja r.p.m. durante 60 min. Además, se añadieron 1,0 g de fibras prebióticas solubles en agua (fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, inulina y povidextrona) a 4,0 gm de té negro, verde u oolong y se mezclaron a temperatura ambiente con baja r.p.m. durante 60 min (**Tabla 2**). Se prepararon aproximadamente 5,0 g de estas composiciones de té utilizando un infusor eléctrico y se probó el recuento de esporas viables según el método descrito anteriormente (Majeed *et al.*, World J Microbiol Biotechnol (2016) 32:60). Los promedios de los recuentos de esporas viables se expresan en log10 UFC.

Tabla 2. Formulación de bebidas de té

Formulación	<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856 (15 × 10 ⁹ esporas/gm)	#Excipiente de té y bebidas + Fibra prebiótica* (gramos)	Peso total por porción
01	0,15 g	3,96 + 0,04 + 0,0	4,15
02	0,075 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,075
03	0,15 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,15
04	0,30 g	3,96 + 0,04 + 1,0	5,30
#En donde el té es negro, verde y oolong.			
*En donde las fibras prebióticas son FOS, GOS, inulina y povidextrona			

Efecto del estrés gástrico y de las condiciones de preparación en la germinación de las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856

El efecto del estrés gástrico sobre las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 se estudió tratando café preparado (**no según la invención**) o té (como se describe en el párrafo anterior) en condiciones ácidas. El pH del café o té preparado se ajustó asépticamente a 1,5 utilizando HCl 2 N y se incubó a 37 °C durante 3 h con baja r.p.m. Después de 3 h de incubación, de nuevo se ajustó asépticamente el pH a 7,0 utilizando NaOH 2 N y se añadió 0,5% (p/v) de bilis de buey al frasco de té o café. También se añadió a cada matraz la enzima reductora de oxígeno Oxyrase (Oxyrase® para caldo, Oxyrase, Inc, Mansfield, OH, EE. UU.). Otros matraces se incubaron a 37 °C durante 24 h con baja r.p.m. También se registraron los valores de pH a las 0 h de incubación y después de 24 h de incubación. Se registró la densidad óptica (OD) a 600 nm a las 0 h y después de 24 de incubación diluyendo la muestra en agua desmineralizada esterilizada a 1:5.

Ejemplo 2: Resultados de la preparación de café (no según la invención) y té con *Bacillus coagulans* MTCC 5856

Café preparado con *Bacillus coagulans* MTCC 5856 (no según la invención)

Se evaluó la termoestabilidad y la compatibilidad de las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en el café durante la preparación utilizando un infusor eléctrico. Se utilizaron filtros de acero inoxidable y de papel en el infusor para comprender la viabilidad de la preparación probiótica. Hubo una reducción de 0,5 Log10 ufc (esporas) tras la preparación, que se mantuvo casi igual incluso tras 10 minutos de incubación a temperatura ambiente (Tabla 3). Los datos sugirieron que las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 seguían siendo viables en un 94,83% tras la preparación utilizando un filtro de acero inoxidable. No se observaron diferencias significativas cuando el café se preparó utilizando filtros de acero inoxidable o de papel.

Tabla 3. Viabilidad de *B. coagulans* MTCC 5856 durante la preparación del café utilizando un infusor eléctrico

Tiempo	Preparado y filtrado con filtro SS		Preparado y filtrado con filtro de papel	
	Log ₁₀ UFC/10 g	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/10 g	Viabilidad (%)
Después de la preparación	9,8388 ± 0,012	100	9,8388 ± 0,012	100
Después de la preparación	9,3304 ± 0,011	94,83	9,2600 ± 0,014	94,11
Después de 10 min	9,3096 ± 0,013	94,63	9,2504 ± 0,012	94,01

Té preparado con *Bacillus coagulans* MTCC 5856

- 5 El té negro, el té verde y el té oolong se suplementaron con esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 y se prepararon para determinar la supervivencia de las esporas durante la preparación. Las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 resultaron ser muy estables y la viabilidad se mantuvo por encima del 99% tras la preparación (Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Viabilidad de *B. coagulans* MTCC 5856 durante la preparación de té negro utilizando un infusor eléctrico

Tiempo	Formulación -01		Formulación -02		Formulación -03	
	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)
Recuento inicial	8,9309 ± 0,011	100,00	9,1182 ± 0,012	100,00	9,4667 ± 0,010	100,00
Después de la preparación	9,1760 ± 0,014	102,74	9,1846 ± 0,011	100,73	9,6570 ± 0,014	102,01
Después de 10 min	9,1583 ± 0,011	102,55	9,1760 ± 0,010	100,63	9,6683 ± 0,011	102,13
Después de 72 h de enfriamiento	8,6570 ± 0,012	96,93	8,6739 ± 0,012	95,13	9,2878 ± 0,011	98,11

10 Las mismas muestras de té preparado se enfriaron durante 72 h y después se determinó la viabilidad de las esporas. La viabilidad de las esporas en el té negro, verde y oolong tras la refrigeración durante 72 h fue del 95,13%, 93,58% y 94,51% respectivamente (Tabla 4 y 5).

- 15 **Tabla 5.** Viabilidad de *B. coagulans* MTCC 5856 durante la preparación de té verde y oolong utilizando un infusor eléctrico

Tiempo	Té verde		Té oolong	
	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)
Después de la preparación	9,4471 ± 0,011	100	9,4313 ± 0,012	100
Después de la preparación	9,3830 ± 0,012	99,32	9,3921 ± 0,011	99,58
Después de 10 min	9,371 ± 0,013	99,19	9,3842 ± 0,014	99,50
Después de 72 h de enfriamiento	8,841 ± 0,014	93,58	8,914 ± 0,012	94,51

Germinación de las esporas

- 20 Para aportar la cantidad adecuada de esporas viables de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en el intestino humano, se llevó a cabo un estudio del efecto de las condiciones de preparación y del estrés gástrico sobre la germinación de las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856. Se prepararon té y café junto con las esporas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 y después se sometieron a estrés gástrico (ácido y bilis) seguido de incubación anaeróbica a 37 °C con sales biliares para imitar las condiciones humanas. Este conjunto de experimentos se llevó a cabo
- 25 para comprender la germinación de las esporas cuando el *Bacillus coagulans* MTCC 5856 es preparado y digerido por el ser humano. Además, junto con el té y el café se elaboró una preparación de *B. coagulans* MTCC 5856 con fibras prebióticas solubles en agua (fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, inulina y polidextrosa). Los

resultados del experimento revelaron que las esporas de *B. coagulans* MTCC 5856 podían germinar tras la preparación y sobrevivir en condiciones adversas de estrés gástrico utilizando té o café como única fuente nutritiva (**Tabla 6**). Además, se produjo un aumento adicional de la germinación mediante la adición de fibras prebióticas solubles en agua (**Tabla 6**). Esto sugirió que las fibras prebióticas solubles tienen un efecto sinérgico junto con el té y el café sobre la germinación de las esporas de *B. coagulans* MTCC 5856.

Tabla 6. Germinación de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en estrés gástrico utilizando té y café, o en combinación con fibras prebióticas solubles en agua como fuente nutricional

No. S.	Composición probiótica	OD a 600 nm (1: 5 de dilución)		% de aumento del crecimiento
		0 h	24 h	
1	Té negro + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,083 ± 0,001	0,156 ± 0,01	46,79
2	Té negro + FOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,091 ± 0,002	0,185 ± 0,01	50,81
3	Té negro + GOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,085 ± 0,001	0,187 ± 0,02	54,54
4	Té negro + Inulina + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,088 ± 0,001	0,191 ± 0,01	53,92
5	Té negro + Polidextrosa + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,092 ± 0,003	0,188 ± 0,02	51,06
6	Té verde + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,075 ± 0,001	0,112 ± 0,02	33,03
7	Té verde + FOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,078 ± 0,002	0,125 ± 0,01	37,60
8	Té verde + GOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,075 ± 0,001	0,145 ± 0,03	48,27
9	Té verde + Inulina + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,079 ± 0,003	0,141 ± 0,01	43,97
10	Té verde + Polidextrosa + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,074 ± 0,002	0,142 ± 0,02	47,88
11	Té Oolong + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,084 ± 0,001	0,123 ± 0,01	31,70
12	Té Oolong + FOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,082 ± 0,001	0,162 ± 0,02	49,38
13	Té Oolong + GOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,085 ± 0,003	0,159 ± 0,01	46,54
14	Té Oolong + Inulina + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,086 ± 0,001	0,159 ± 0,01	45,91
15	Té Oolong + Polidextrosa + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,085 ± 0,002	0,157 ± 0,01	45,85
16	Café + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,142 ± 0,001	0,361 ± 0,01	60,66
17	Café + FOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,139 ± 0,001	0,521 ± 0,02	73,32
18	Café + GOS + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,154 ± 0,002	0,531 ± 0,03	70,99
19	Café + Inulina + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,145 ± 0,001	0,516 ± 0,01	71,89
20	Café + Polidextrosa + <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	0,144 ± 0,003	0,532 ± 0,02	72,93

Ejemplo 3 (no según la invención): Composiciones para bebidas con *Bacillus coagulans* MTCC 5856

También se probó la viabilidad de *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en otras bebidas como soda/refresco gasificados, jugos de frutas, agua mineral, chocolate, cacao, bebidas de frutas, batidos, malteadas, queso para untar, miel, ketchup de tomate, mermelada, mayonesa, bebida proteica y helado. Los resultados se presentan en las **tablas 7 y 8**.

Tabla 7. Estabilidad y recuperación de esporas de *Bacillus coagulans* en bebidas

Tiempo	Bebida gaseosa con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856		Refresco Thums Up con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856		Jugo de naranja con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856		Refresco Sprite con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856		Agua mineral con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856	
	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)	Log ₁₀ UFC/porción	Viabilidad (%)
Recuperación prevista	9,301	100	9,301	100	9,301	100	9,301	100	9,301	100
Después de 24 h	8,612	92,59	8,454	92,59	9,217	99,1	8,204	88,21	9,26	99,56

Tabla 8. Estabilidad de las esporas de *B. coagulans* MTCC 5856 durante el proceso de preparación de diversos alimentos y mezclas de bebidas y su recuperación

No. S.	Muestra	Log ₁₀ UFC/porción	% de Recuperación
1	Fruto seco (anacardo) con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 20 g)	8,781	94,41
2	Chocolate con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,25	99,45
3	Queso para untar con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,26	99,56
4	Miel con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,13	98,16
5	Mermelada de frutas mixtas con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	8,989	96,65
6	Ketchup de tomate con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,065	97,46
7	Mayonesa con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	8,958	96,31
8	Mezcla para bebida proteica con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,274	99,71
9	Leche de soya con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	8,238	88,57
10	Shrikhand con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 50 g)	9,064	97,45
11	Helado con <i>B. coagulans</i> MTCC 5856 (porción de 30 g)	7,99	85,90

Los resultados indicaron que *B. coagulans* MTCC 5856 es estable en todas las composiciones de bebidas con una mayor viabilidad y recuperación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una bebida que comprende *Bacillus coagulans* en forma de esporas con una viabilidad superior al 95%, en donde la bebida se obtiene mediante la preparación de una composición que comprende *Bacillus coagulans* MTCC 5856 en forma de esporas, y células vegetativas viables, eliminadas por calor, muertas o lisadas de *Bacillus coagulans* MTCC 5856, en donde dichas esporas bacterianas tienen la capacidad de sobrevivir a los tratamientos de estrés, temperatura y aireación de dicha composición de bebida, en donde la composición comprende té y la viabilidad es de 10 minutos después de la preparación, en donde el té se selecciona del grupo que consiste en té verde, té negro, té oolong, té amarillo, té blanco o té descafeinado, té de hierbas seleccionado del grupo que
- 10 consiste en té de rosa mosqueta, té de manzanilla, té jiaogulan, té de menta, té rooibos, té de jengibre, té de ginseng o té de hierba limón.
- 15 2. La bebida de conformidad con la reivindicación 1, en donde la composición comprende además una fibra prebiótica soluble en agua que produce un efecto sinérgico junto con el té sobre la germinación de las esporas.
3. La bebida de conformidad con en la reivindicación 2, en donde la fibra soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS), inulina y polidextrosa.