

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21) N° 81 06885

(54) Bonbons comprimés contenant des bifidobactéries et procédé pour leur préparation.

(51) Classification internationale (Int. Cl. 3). A 61 K 35/74; A 61 J 3/06; A 61 K 9/20.

(22) Date de dépôt..... 6 avril 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : Japon, 8 avril 1980, n° 45245/80.

**(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 41 du 9-10-1981.**

(71) Déposant : Société dite : MEIJI SEIKA KAISHA LTD., résidant au Japon.

(72) Invention de : Takashi Adachi, Takeo Ooki, Takahiko Hayashi et Kazuo Yoshida.

(73) Titulaire : *Idem*, (71)

**(74) Mandataire : Cabinet Plasseraud,
84, rue d'Amsterdam, 75009 Paris.**

BONBONS COMPRIMES CONTENANT DES BIFIDOBACTERIES ET
PROCEDE POUR LEUR PREPARATION

La présente invention se rapporte à des bonbons comprimés contenant des bifidobactéries et dans lesquels ces dernières, séchées au préalable, restent stables et se conservent pendant de longues durées, et un procédé 5 pour préparer ces bonbons.

Les bifidobactéries sont bien connues : elles représentent une proportion importante des bactéries vivant dans l'intestin des enfants nourris au sein. On a déjà publié un grand nombre d'études relatives à l'importance physiologique des bifidobactéries ; ainsi par exemple, parmi leurs effets les plus connus on peut citer l'inhibition de la putréfaction provoquée par les bactéries putréfiantes intestinales, l'inhibition de la production de composés aminés toxiques et l'inhibition de la 15 croissance des bactéries pathogènes par production d'acides organiques tels que l'acide lactique et l'acide acétique.

A d'autres égards, on sait que les bifidobactéries peuvent être incorporées à des produits alimentaires. 20 Dans la production industrielle de boissons lactées par exemple, on cultive les bifidobactéries dans un milieu approprié, on les recueille par centrifugation et on les incorpore dans le lait ou le lait fermenté à l'état de bactéries vivantes. Toutefois, l'incorporation des bifidobactéries pose certains problèmes : outre la mauvaise odeur inhérente à cette bactérie, le produit alimentaire 25 la contenant doit nécessairement être conservé à une température ne dépassant pas 10°C si l'on veut maintenir le nombre des bactéries vivantes à un certain niveau et également si l'on veut prévenir une formation indésirable 30 d'acides et une détérioration du goût due à la fermentation secondaire. En outre, le produit alimentaire contenant

des bifidobactéries ne peut être conservé que pendant de courtes durées, quelques semaines, même dans les conditions indiquées ci-dessus, et il doit être rejeté lorsqu'il est dénaturé.

5 A la suite d'études approfondies visant à la préparation d'un produit alimentaire contenant des bifidobactéries et ne présentant pas les inconvénients décrits ci-dessus, inhérents aux produits alimentaires antérieurs contenant ces bactéries, c'est-à-dire un produit qui ne 10 présente pas de manière sensible la mauvaise odeur typique des bifidobactéries, qui réponde au goût du public, qui possède la stabilité permettant la conservation pendant de longues durées sans utilisation d'appareillages particuliers, et qui possède une forme permettant la consommation à tout moment, la Demandérresse a trouvé qu'on pouvait éviter les inconvénients décrits ci-dessus dans 15 un bonbon qu'on prépare en incorporant les bifidobactéries sèches dans une matière de mélange contenant au moins 1 %, d'une ou plusieurs substances choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines 20 et ne contenant pas plus de 4 % d'eau.

Dans un procédé classique pour incorporer un micro-organisme dans un bonbon, on sèche le micro-organisme vivant, on le réduit en poudre, on l'ajoute à une matière 25 de mélange classique pour la formation d'un comprimé, par exemple le sucre, et on met à l'état de comprimé sur une machine appropriée. Toutefois, l'application de ce procédé classique à la formation du bonbon contenant les bifidobactéries n'est pas pratique parce que, si l'on veut assurer 30 la présence d'un nombre suffisant de bifidobactéries vivantes dans le bonbon pendant de longues durées, il faut conserver les bonbons à basse température car les bifidobactéries ont une stabilité insuffisante. Pour résoudre ce problème, la Demandérresse a recours au procédé 35 selon l'invention qui se caractérise en ce que l'on ajoute à un mélange de la matière classique mentionnée ci-dessus

et d'une poudre de bifidobactéries lyophilisée une ou plusieurs substances séchées au préalable et choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines, ne contenant pas plus de 4 % d'eau et de préférence pas plus de 0,2 à 1 % d'eau, en proportion voulue.

De préférence l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et/ou la protéine est ajouté à raison de 3 % à 15 % calculés sur la quantité totale de mélange en poudre.

Par conséquent, l'invention concerne un bonbon contenant des bifidobactéries et qui est composé d'une matière de mélange classique dans laquelle on a incorporé des bifidobactéries sèches, ce bonbon se caractérisant en outre en ce qu'il comprend une ou plusieurs substances choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines, ne contenant pas plus de 4 % d'eau. L'invention comprend également un procédé pour préparer un bonbon contenant des bifidobactéries par mélange d'une poudre de bifidobactéries vivantes lyophilisée avec une matière de mélange classique préparée séparément à l'état pulvérulent, en faisant suivre d'une mise en comprimés de ce mélange pulvérulent, ce procédé se caractérisant en ce que l'on ajoute audit mélange de la matière classique et de la poudre de bifidobactéries une ou plusieurs substances choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines, ne contenant pas plus de 4 % d'eau.

Parmi les matières de mélange classiques préférées dans l'invention, on citera les saccharides à faible teneur en humidité comme le sucre granuleux, le sucre en morceaux, le lactose et le glucose ; des acides organiques cristallisés comme l'acide citrique, l'acide succinique, l'acide ascorbique et l'acide tartrique. On peut encore utiliser d'autres matières de mélange analogues à celles qu'on vient de mentionner et couramment utilisées dans la préparation de bonbons. Ces matières de mélange classiques sont réduites en poudre et séchées, et le cas échéant

soumises à d'autres traitements appropriés. Si on le désire, on peut incorporer d'autres additifs tels que des arômes.

Parmi les amidons qu'on peut ajouter à la matière de mélange classique, on citera la féculle de pomme de terre, 5 l'amidon de patate douce et l'amidon de maïs. Parmi les hydrolysats d'amidons, on citera la dextrine, le sirop d'amidon en poudre et le maltose qu'on produit par hydrolyse de l'amidon tel que mentionné ci-dessus à l'aide d'un acide ou d'une enzyme jusqu'à un niveau ne dépassant pas DE 35. 10 Parmi les protéines, on citera le lait écrémé, la caséine et la protéine de soja, ainsi que des matières comestibles contenant ces protéines en tant que constituants principaux. Ces matières peuvent être utilisées isolément ou à l'état de mélange. La teneur en humidité de ces substances ne doit 15 pas dépasser 4 % et de préférence 0,2 à 1 %, comme on l'a indiqué ci-dessus.

Parmi les bifidobactéries qu'on peut utiliser dans l'invention, on citera Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum et Bifidobacterium adolescentis. On 20 peut utiliser d'autres souches pour autant qu'elles appartiennent au genre Bifidobacterium. Ces bactéries sont bien connues et peuvent être obtenues facilement. La souche est soumise à culture anaérobiose selon un mode opératoire usuel, et la masse bactérienne est recueillie par des techniques 25 classiques telles que la centrifugation après culture. La masse bactérienne ainsi obtenue peut être utilisée telle quelle à l'état sec ou après incorporation dans un milieu de dispersion tel que le lait écrémé, pour formation d'une dispersion sèche dans des conditions anaérobies. Le mode 30 de séchage utilisé est de préférence la lyophilisation et la teneur en humidité après séchage est de préférence réglée à un niveau ne dépassant pas 3 % environ. La masse sèche est ensuite réduite en poudre par une technique appropriée, pour faciliter l'opération de mélange. La masse 35 bactérienne séchée peut être diluée par la ou les matières mentionnées ci-dessus, séchées et déshydratées, pour

réglage du nombre des bactéries vivantes contenues dans un gramme de poudre ; on peut ainsi régler facilement à un niveau constant le nombre initial des bactéries dans le produit.

5 Les proportions relatives entre la matière de mélange classique mentionnée ci-dessus, l'additif tel que l'amidon et la poudre de bifidobactéries séchée à la formation du mélange se situent en général dans l'intervalle de 98,8 : 1, 0 : 0,2 à 84,8 : 15,0 : 0,2. La formation du 10 mélange ne demande pas de conditions particulières. Ainsi par exemple, on peut faire appel à un mélangeur de type classique pour former un mélange homogène. Les comprimés peuvent être formés dans une machine fonctionnant en dis-continu mais pour permettre une formation continue des comprimés, on utilisera de préférence une machine rotative à comprimés.

Les bonbons comprimés préparés conformément à l'invention ne présentent pas la mauvaise odeur typique des bifidobactéries et peuvent être conservés pendant de longues durées. Ils peuvent donc être consommés tels quels ou en mélange avec d'autres aliments à un moment quelconque et en quantité quelconque. Ainsi donc, l'invention permet d'éviter tous les problèmes rencontrés antérieurement avec les produits alimentaires contenant des bifidobactéries.

25 On notera que dans tout ce qui précède, on s'est référé à la forme de comprimés. Toutefois, les avantages de l'invention peuvent également être obtenus avec des comprimés pulvérulents, et si on le désire, le produit peut également prendre la forme d'une poudre ensachée.

30 Les résultats expérimentaux rapportés ci-après illustrent l'invention mais ne sont pas limitatifs.

A une matière de mélanges classiques contenant 0,2 partie de poudre de bifidobactéries obtenue par culture et lyophilisation, on ajoute de l'amidon ou d'autres additifs réglés au préalable à des teneurs variées en humidité (comme indiqué dans le tableau II ci-après) ; on

forme ainsi un mélange aux proportions indiquées dans le tableau I ci-après. Ce mélange est moulé en comprimés et conservé à 37°C pendant trois mois au bout desquels on détermine le nombre des bactéries vivantes.

5 Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau II ci-après.

TABLEAU I

10	Section expérimentale	:	Matière de mélange classique	:	Additif tel qu'amidon
		:		:	
	A	:	99	:	1
	B	:	97	:	3
15	C	:	93	:	7
	D	:	85	:	15
	Témoin	:	100	:	-
		:		:	

TABLEAU II

	Additif	Section expérimentale						
		: Teneur : en eau	-----	: après : séchage	A	B	C	D
		%						
	Amidon de maïs	0,5	: $1,0 \times 10^6$: $1,9 \times 10^7$: $7,6 \times 10^7$: $1,6 \times 10^8$		
10	Dextrine (DE12)	0,4	: $2,0 \times 10^6$: $2,6 \times 10^7$: $7,3 \times 10^7$: $1,2 \times 10^8$		
	Dextrine (DE35)	0,2	: $4,8 \times 10^6$: $6,3 \times 10^7$: $6,6 \times 10^7$: $1,6 \times 10^8$		
	Dextrine (DE2)	0,3	: $1,0 \times 10^6$: $1,6 \times 10^7$: $9,2 \times 10^7$: $1,3 \times 10^8$		
	Maltose (DE55)	4,0	: $7,2 \times 10^5$: $1,0 \times 10^6$: $5,5 \times 10^6$: $1,5 \times 10^7$		
15	Lait écrémé	1,0	: $5,2 \times 10^5$: $4,3 \times 10^7$: $1,2 \times 10^7$: $1,0 \times 10^8$		
	Témoin				: $1,0 \times 10^5$			

20 Observations

Le nombre des bifidobactéries vivantes rapporté dans le tableau II est basé sur 1 g du bonbon comprimé. Au début de l'expérience, le nombre des bifidobactéries vivantes était de $1,6 \times 10^8$ /g du bonbon comprimé.

25 Les résultats rapportés dans le tableau II ci-dessus montrent que lorsqu'on a ajouté de l'amidon de maïs, de la dextrine, du maltose ou du lait écrémé, on ne constate pas de diminution notable du nombre des bactéries vivantes alors que dans l'essai témoin dans lequel on n'utilise pas un tel additif, le nombre des bactéries vivantes est tombé à $1,0 \times 10^5$.

30 Le mécanisme à l'origine de l'amélioration des propriétés de conservation obtenue conformément à l'invention n'est pas encore clairement élucidé. Toutefois, on peut formuler une hypothèse suggérée par le fait que le 35 nombre des bactéries mortes augmente lorsque la teneur en

humidité de l'amidon ou d'un autre additif analogue dépasse 5 % : l'hygroscopicité de l'additif tel que l'amidon, déshydraté et séché au préalable jusqu'à une teneur en humidité ne dépassant pas 4 %, est plus forte que celle de 5 la poudre de bifidobactéries lyophilisée ; par suite, l'eau contenue en quantité de traces dans une matière de mélange classique telle que le sucre ne passe pas dans la poudre de bifidobactéries lyophilisée dans les conditions de conservation à 37°C. Ainsi donc, le taux d'humidité existant 10 au voisinage des bactéries est maintenu très bas, empêchant le mouvement de la molécule vers la bactérie.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois la limiter ; dans ces exemples, les indications de parties et de pourcentages s'entendent en poids sauf mention contraire.

EXEMPLE 1

On cultive dans des conditions anaérobies Bifidobacterium infantis S-12, ATCC n° 15 697, dans un milieu contenant 5 % de lait écrémé à 37°C pendant 18 heures 20 et on recueille la masse bactérienne par centrifugation. On la disperse dans des conditions anaérobies dans un milieu contenant 10 % de lait écrémé et on lyophilise. On obtient ainsi une poudre de bifidobactéries à une teneur en humidité ne dépassant pas 3 %.

25 Séparément, on pétrit dans un mélangeur à double bras une matière de mélange classique consistant en 95 parties de sucre en poudre, 1 partie de gélatine et 4 parties d'eau puis on envoie dans une machine à extruder en granulés du type à cylindre, et on sèche à l'air chaud à 60°C pendant 30 45 minutes ; on obtient ainsi des granulés.

On mélange 90,3 parties de ces granulés avec 7 parties d'amidon de maïs réglé à une teneur en humidité d'environ 0,5 % par séchage à l'air chaud, 0,2 partie de la poudre de bifidobactéries obtenue ci-dessus et 2,5 parties 35 d'acide tartrique, un arôme en poudre, etc. A partir de ce mélange, on forme des comprimés sur une machine rotative

on obtient ainsi des bonbons comprimés.

On a déterminé directement le nombre de bifidobactéries après formation des comprimés ; on a obtenu 2×10^8 bactéries/g du bonbon comprimé. On a conservé ces 5 bonbons à 37°C pendant 3 mois ; on a alors constaté qu'ils contenaient $8,2 \times 10^7$ bactéries vivantes par gramme.

En contraste avec les résultats décrits ci-dessus, un bonbon comprimé obtenu à partir d'un mélange de la matière classique en granulés décrite ci-dessus mais sans 10 amidon de maïs et de la poudre de bifidobactéries également décrite ci-dessus ne contient que $1,5 \times 10^5$ bactéries vivantes par gramme dans des conditions identiques à celles décrites ci-dessus.

Il est donc clair que le bonbon comprimé selon 15 l'invention possède d'excellentes propriétés de conservation.

EXAMPLE 2

On mélange 81,8 parties des granulés préparés comme décrit dans l'exemple 1 avec 15 parties de poudre de 20 lait écrémé réglée à une teneur en humidité de 1,0 % par séchage à l'air chaud, 0,2 partie de la poudre de bifidobactéries obtenue comme décrit dans l'exemple 1 et 3 parties d'acide citrique, un arôme en poudre, etc. A partir de ce mélange, en opérant comme décrit dans l'exemple 1, 25 on forme les bonbons comprimés.

On trouve que ces bonbons comprimés contiennent $1,0 \times 10^8$ bifidobactéries par gramme. On les conserve à 37°C pendant 3 mois ; on trouve alors qu'ils contiennent $4,5 \times 10^7$ bactéries vivantes par gramme.

EXAMPLE 3

Glucose cristallisé..... 92 parties

Gélatine..... 1 partie

Eau..... 7 parties

On malaxe ces composants dans un mélangeur à 35 double bras, on introduit dans une machine à extruder en granulés du type à cylindre et on sèche à l'air chaud à

60°C pendant 1 heure ; on mélange 93,8 parties des granulés obtenus avec 3 parties du produit du commerce Pindex n° 5 (valeur DE : 33, produit de la firme Matsutani Kagaku Co., Ltd, Japon) séché à l'air chaud jusqu'à une teneur en humidité de 0,2 %, 0,2 partie de la poudre de bifidobactéries préparée dans l'exemple 1 et 3 parties d'acide citrique, un arôme en poudre, etc. En opérant comme décrit dans l'exemple 1, on forme des bonbons comprimés à partir de ce mélange.

10 On trouve que ces bonbons contiennent 5×10^7 bifidobactéries par gramme. On les conserve à 37°C pendant 3 mois ; on trouve alors qu'ils contiennent $1,2 \times 10^7$ bactéries vivantes par gramme.

EXEMPLE 4

15 On mélange 81,8 parties des granulés obtenus dans l'exemple 1 avec 7,5 parties du produit du commerce Pindex n° 5 (valeur DE : 33, produit de la firme Matsutani Kagaku Co., Ltd, Japon) séché à l'air chaud jusqu'à teneur en humidité de 0,2 %, 7,5 parties de féculle de pomme de terre 20 réglée à une teneur en humidité d'environ 0,5 % par séchage à l'air chaud, 0,2 partie de la poudre de bifidobactéries préparée dans l'exemple 1, 3 parties d'acide citrique, un arôme en poudre, etc. En opérant comme décrit dans l'exemple 1, on forme des bonbons comprimés à partir de ce de mélange.

25 On constate que ces bonbons contiennent $1,0 \times 10^8$ bactéries par gramme.

On les conserve à 37°C pendant 3 mois ; on trouve alors qu'ils contiennent $6,0 \times 10^7$ bactéries vivantes par 30 gramme.

REVENDICATIONS

1. Bonbon comprimé contenant des bifidobactéries et composé d'une matière de mélange classique dans lequel-
le on a incorporé des bifidobactéries lyophilisées, ce
5 bonbon se caractérisant en ce qu'il contient en outre une ou plusieurs substances choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines, ne con-
tenant pas plus de 4 % d'eau.

2. Procédé de préparation d'un bonbon comprimé
10 contenant des bifidobactéries par mélange d'une poudre de bifidobactéries vivantes lyophilisée avec une matière de mélange classique préparée séparément à l'état pulvérulent et transformation du mélange en comprimés, ce procédé se caractérisant en ce que l'on ajoute en outre au mélange
15 de la matière classique et de la poudre de bifidobactéries une ou plusieurs substances choisies dans le groupe formé par l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et les protéines, ne contenant pas plus de 4 % d'eau.

3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé
20 en ce que l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et/ou la protéine contiennent de 0,2 à 1 % d'eau.

4. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et/ou la protéine sont ajoutés en quantité non inférieure à 1 % de la quan-
25 tité totale de mélange pulvérulent.

5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que l'amidon, l'hydrolysat d'amidon et/ou la protéine sont ajoutés en quantité de 3 à 15 % de la quantité totale de mélange pulvérulent.

30 6. Procédé selon l'une quelconque des revendica-
tions 2 ou 3, caractérisé en ce que l'amidon consiste en
farine de pomme de terre, amidon de patate douce ou amidon de maïs, à une teneur en humidité de 0,2 à 1,0 %.

7. Procédé selon l'une quelconque des revendica-
35 tions 2 ou 3, caractérisé en ce que l'hydrolysat d'amidon consiste en dextrine, sirop d'amidon pulvérulent ou maltose

à une valeur de DE ne dépassant pas 35 et à une teneur en humidité de 0,2 à 1,0 %.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce que la protéine consiste en lait écrémé, caséine ou protéine de soja à une teneur en humidité de 0,2 à 1,0 %.

9. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'hydrolysat d'amidon consiste en dextrine à une valeur de DE de 2 à 35.