(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 997 284**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/10 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/44 (2007.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A23L 33/135 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2020 PCT/JP2020/012524**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.04.2021 WO21075073**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2020 E 20877757 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2024 EP 4046499**

(54) Título: **Composición, método de producción, y uso**

(30) Prioridad:

17.10.2019 US 201962916346 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.02.2025

(73) Titular/es:

MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD. (100.00%)
5-2, Higashishimbashi 1-Chome
Minato-kuTokyo 105-7122, JP

(72) Inventor/es:

FUJII KENGO y
MIYAUCHI HIROFUMI

(74) Agente/Representante:

QUIRÓS MARÍN, María

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

Composición, método de producción, y uso

Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición, a un método de producción, y a su uso.

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente estadounidense provisional n.º 62916346 presentada el 17 de octubre de 2019.

Descripción de la técnica relacionada

[Antecedentes de la técnica]

Según se informa, las bacterias tienen efectos ventajosos sobre la salud humana, tales como efectos de alivio del estreñimiento y la diarrea, efectos de alivio de la intolerancia a la lactosa, mejora en la función inmunitaria que conduce a protección frente a la infección y efectos de supresión de alergias, efectos de prevención de arterioesclerosis, y acciones antitumorales. Por tanto, en los últimos años, se han vendido productos obtenidos suspendiendo un polvo bacteriano en un aceite graso, que se denominan “gotas de aceite”.

En las gotas de aceite, es deseable que un polvo bacteriano se disperse uniformemente en un aceite graso. Sin embargo, en algunos casos, el polvo bacteriano precipita y se deposita en el fondo del recipiente, y finalmente forma un depósito, haciendo que sea difícil redispersar el polvo bacteriano. Este fenómeno de deposición se denomina apelmazamiento.

El documento de patente 1 describe una composición de complemento que contiene al menos una especie o al menos una cepa de bacterias probióticas, un aceite, y fosfato de calcio dibásico anhidro. Se describe que la supervivencia de las bacterias probióticas se mantiene en esta composición de complemento. Esta composición de complemento es una suspensión que contiene un aceite como medio de dispersión.

Sin embargo, se desconoce si se suprime el apelmazamiento de las bacterias probióticas en la composición de complemento descrita en el documento de patente 1.

El documento de patente 2 divulga una composición que comprende un polvo de *Bifidobacterium*, un aceite graso que es aceite de pepitas de tomate y un polvo microscópico que es sílice. La composición no se apelmaza.

Según estudios realizados por los presentes inventores, tal como se muestra en los ejemplos de referencia descritos a continuación, en el caso en el que un portador contenido en un polvo bacteriano se dispersó solo en un aceite graso (medio de dispersión), no se produjo apelmazamiento del portador. A partir de este resultado del estudio, los presentes inventores han considerado que el apelmazamiento de un polvo bacteriano en gotas de aceite está provocado por las propias células bacterianas contenidas en el polvo bacteriano.

[Lista de referencias]

[Bibliografía de patentes]

[Documento de patente 1]

Publicación de patente estadounidense n.º 2018/0235271 A1

[Documento de patente 2]

Documento CN 108 113 003 A

[Sumario de la invención]

[Problema técnico]

Un objeto de la invención es proporcionar una composición que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso y en la que se suprime el apelmazamiento del polvo bacteriano, un método para producir la misma, y su uso.

[Solución al problema]

Los presentes inventores han realizado una extensa investigación para resolver los problemas anteriores. Como resultado, han descubierto que los problemas anteriores pueden resolverse mediante las siguientes configuraciones y así lograron la invención.

[1] Una composición que incluye un polvo bacteriano, un aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo,

en la que el polvo microscópico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en celulosa microcristalina y fosfato tricálcico, en el que el aceite graso está contenido en una cantidad del 90 % en masa o más, basado en la masa total de la composición, y

en la que el tensioactivo contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo aniónico y un tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7.

[2] Un método para producir la composición de la invención, que incluye mezclar un polvo bacteriano, un aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo en un orden arbitrario, o mezclar una suspensión que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso con al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo.

[3] Uso de al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo como agente antiapelmazante para un polvo bacteriano en una composición que contiene un aceite graso, en el que el polvo microscópico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en celulosa microcristalina y fosfato tricálcico, en el que el aceite graso está contenido en una cantidad del 90 % en masa o más, y en el que el tensioactivo contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo aniónico y un tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7.

[Efectos ventajosos de la invención]

Según algunos aspectos de la invención, pueden proporcionarse una composición que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso y en la que se suprime el apelmazamiento del polvo bacteriano, un método para producir la misma, y su uso.

En la composición según un aspecto de la invención, se suprime el apelmazamiento del polvo bacteriano, y el polvo bacteriano es fácil de dispersar en el aceite graso que es un medio de dispersión.

[Descripción de realizaciones]

El apelmazamiento significa que en una suspensión que contiene un polvo bacteriano, el polvo bacteriano precipita y se deposita para formar un depósito que es difícil de redispersar. Es decir, el apelmazamiento significa que se producen precipitación y deposición, y también se forma un depósito que es difícil de redispersar. Incluso cuando se producen precipitación y deposición, si es posible la redispersión, no puede denominarse apelmazamiento.

Un intervalo numérico expresado usando “a/hasta” incluye los límites superior e inferior del intervalo numérico.

[Composición]

La composición de la invención incluye un polvo bacteriano, un aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo.

Más adelante en el presente documento, se describirán con detalle el polvo bacteriano, el aceite graso, el polvo microscópico, y el tensioactivo.

<Polvo bacteriano>

“Polvo bacteriano” es un término general para células bacterianas secadas.

El método para secar células bacterianas puede ser, pero no se limita a, liofilización o secado por pulverización, por ejemplo.

La liofilización es un método en el que el secado se realiza a una baja temperatura de aproximadamente -20 °C a -160 °C usando un liofilizador, nitrógeno líquido, o similar, habitualmente a una presión reducida de aproximadamente 1 a 60 Pa.

El secado por pulverización es un método en el que se forma un líquido en gotitas usando un atomizador, y las gotitas se pulverizan en una corriente de gas calentada que tiene una temperatura relativamente alta para evaporar la humedad, realizando de ese modo el secado.

El polvo bacteriano puede contener sólo células bacterianas, o también puede contener células bacterianas y componentes distintos de células bacterianas. Los ejemplos de los componentes distintos de células bacterianas utilizables incluyen crioprotectores, protectores de liofilización, protectores de secado por pulverización, y portadores.

El polvo bacteriano también puede estar en el estado de estar disperso en un material triturado, un excipiente, o un portador que se ha usado como material para productos farmacéuticos o material para alimentos y bebidas. Como material triturado, el excipiente, o el portador, pueden mencionarse por ejemplo, almidones, productos de descomposición de almidón, y dextrina. Los ejemplos de los almidones incluyen almidón de maíz, almidón de patata, y almidón de tapioca.

El polvo bacteriano contiene preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en células vivas de bacterias de ácido láctico, células muertas de bacterias de ácido láctico, células vivas de bacterias del género *Bifidobacterium*, y células muertas de bacterias del género *Bifidobacterium*.

<<Bacterias de ácido láctico>>

"Bacterias de ácido láctico" es un término general para bacterias que pertenecen al filo *Firmicutes* en el dominio *Bacteria* y producen ácido láctico durante el metabolismo.

Como bacterias de ácido láctico, entre las bacterias que pertenecen al filo *Firmicutes* y producen ácido láctico durante el metabolismo, se prefieren las que pertenecen a la clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales*, y se prefieren más las que pertenecen a *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, y *Streptococcaceae*.

Los ejemplos de bacterias de ácido láctico que pertenecen a *Lactobacillaceae* incluyen bacterias del género *Lactobacillus*, tales como *Lactobacillus gasseri*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. rhamunosus*, *L. delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus,* y *L. plantarum*.

Los ejemplos de bacterias de ácido láctico que pertenecen a *Enterococcaceae* incluyen bacterias del género *Enterococcus*, tales como *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*.

Los ejemplos de bacterias de ácido láctico que pertenecen a *Streptococcaceae* incluyen bacterias del género Enterococcus, tales como Enterococcus *lactis* y *L. lactis* subsp. *cremoris*, y bacterias del género *Streptococcus*, tales como *Streptococcus thermophilus*.

Los ejemplos de bacterias de ácido láctico que pertenecen a *Leuconostocaceae* incluyen bacterias del género *Leuconostoc*, tales como *Leuconostoc mesenteroides* y *L. mesenteroides* subsp. *cremoris*.

Como bacterias de ácido láctico, se prefiere al menos una seleccionada del grupo que consiste en las especies bacterianas anteriores. Además, como bacterias de ácido láctico, también es posible usar cepas bacterianas de un género o epíteto identificado o cepas de bacterias recién descubiertas.

Las bacterias de ácido láctico pueden usarse en forma de células vivas o células muertas. El modo de las bacterias de ácido láctico usadas también puede ser congelado, liofilizado, o secado por pulverización. Además, las bacterias de ácido láctico pueden contener sólo células bacterianas de bacterias de ácido láctico, o también pueden contener, además de células bacterianas de bacterias de ácido láctico, componentes distintos de células bacterianas (por ejemplo, crioprotectores, protectores de liofilización, protectores de secado por pulverización, etc.). Además, las bacterias de ácido láctico también pueden estar en el estado de estar dispersas en un material triturado. El material triturado usado puede ser un almidón tal como almidón de maíz, almidón de patata, o almidón de tapioca, un producto descompuesto de almidón, dextrina, maltodextrina, o similar.

(*Lactobacillus gasseri*)

Lactobacillus gasseri no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Lactobacillus gasseri* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Lactobacillus gasseri* incluyen NITE BP-01669, ATCC 33323, DSM 20243, JCM 1131, SBT 2055, y OLL 2716. Como *Lactobacillus gasseri*, se prefiere particularmente NITE BP-01669. Una única cepa de *Lactobacillus gasseri* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Lactobacillus acidophilus*)

Lactobacillus acidophilus no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Lactobacillus acidophilus* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Lactobacillus acidophilus* incluyen NITE BP-01695, ATCC 4356, DSM 20079, JCM 1132, YIT 0168, e YIT 0154. Como *Lactobacillus acidophilus*, se prefiere particularmente NITE BP-01695. Una única cepa de *Lactobacillus acidophilus* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Lactobacillus helveticus*)

Lactobacillus helveticus no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Lactobacillus helveticus* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Lactobacillus helveticus* incluyen NITE BP-01671, ATCC 15009, DSM 20075, JCM 1120, y SBT 2171. Como *Lactobacillus helveticus*, se prefiere particularmente NITE BP-01671. Una única cepa de *Lactobacillus helveticus* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Lactobacillus paracasei*)

Lactobacillus paracasei no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Lactobacillus paracasei* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Lactobacillus paracasei* incluyen NITE BP-01633, ATCC 25302, DSM 5622, JCM 8130, ATCC 25599, DSM 20258, y JCM 1171. Como *Lactobacillus paracasei*, se prefiere particularmente NITE BP-01633. Una única cepa de *Lactobacillus paracasei* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(Método de cultivo para bacterias de ácido láctico)

Las células bacterianas de bacterias de ácido láctico pueden adquirirse fácilmente cultivando bacterias de ácido láctico. El método de cultivo no está particularmente limitado siempre que puedan crecer bacterias de ácido láctico. Como método de cultivo, por ejemplo, puede usarse un método usado habitualmente para cultivar bacterias de ácido láctico directamente o después de una modificación adecuada. La temperatura de cultivo es preferiblemente de 25 a 50 °C, y más preferiblemente de 35 a 42 °C. El cultivo se realiza preferiblemente en condiciones anaerobias. Por ejemplo, puede realizarse el cultivo mientras se hace pasar un gas no oxidante, tal como dióxido de carbono. Además, también es posible el cultivo en condiciones microaerófilas, tales como cultivo estacionario líquido. Puede realizarse el cultivo, por ejemplo, hasta que las bacterias de ácido láctico crezcan hasta el grado deseado.

El medio usado para el cultivo no está particularmente limitado siempre que puedan crecer bacterias de ácido láctico. Como medio, por ejemplo, puede usarse un medio usado habitualmente para cultivar bacterias de ácido láctico directamente o después de una modificación adecuada. Es decir, como fuentes de carbono, por ejemplo, pueden usarse sacáridos tales como galactosa, glucosa, fructosa, manosa, celobiosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, almidones, hidrolizados de almidón, y melazas residuales según la utilización. Además, también es posible el cultivo en un medio que contiene una proteína de la leche tal como caseína o suero, o un producto de descomposición de los mismos. Como fuentes de nitrógeno, por ejemplo, pueden usarse amoniaco, así como sales de amonio y sales de nitrato, tales como sulfato de amonio, cloruro de amonio, y nitrato de amonio. Además, como sales inorgánicas, pueden usarse, por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, nitrato de calcio, cloruro de manganeso, sulfato ferroso, y similares. Además, también pueden usarse componentes orgánicos tales como peptona, harina de soja, torta de soja desgrasada, extractos de carne, y extractos de levadura. Además, como medio preparado, puede usarse, por ejemplo, un medio MRS (medio de Man, Rogosa, y Sharpe).

<<Bacterias del género *Bifidobacterium*>>

Bifidobacterium es el nombre de género para un grupo de bacterias pertenecientes al filo *Actinobacteria*, clase *Actinobacteria*, orden *Bifidobacteriales*, en el dominio *Bacteria*.

Los ejemplos de bacterias del género *Bifidobacterium* incluyen *B. longum* subsp. *infantis*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. longum* subsp. *suis*, *B. animalis* subsp. *lactis*, B. *animalis* subsp. *animalis*, *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. dentium*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pseudolongum*, y B. *thermophilum*.

Como bacterias del género *Bifidobacterium*, se prefiere usar al menos una seleccionada del grupo que consiste en *B. longum* subsp. *infantis*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. longum* subsp. *suis*, *B. animalis* subsp. *lactis,* y *B.*

bifidum, y se prefiere más usar al menos una seleccionada del grupo que consiste en *B. longum* subsp. *infantis*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *longum*, y *B. animalis* subsp. *lactis*.

Una única especie de bacteria del género *Bifidobacterium* puede usarse sola, o también es posible usar una combinación de dos o más especies.

Como combinación en el caso de usar juntas dos o más especies de bacterias del género *Bifidobacterium*, se prefiere una combinación de al menos una subespecie de *Bifidobacterium longum* con *Bifidobacterium breve*.

Como bacterias del género *Bifidobacterium*, también es posible usar cepas bacterianas de un epíteto identificado o cepas de bacterias recién descubiertas.

Pueden usarse bacterias del género *Bifidobacterium* en forma de células vivas o células muertas. El modo de las bacterias del género *Bifidobacterium* usado también puede ser congelado, liofilizado, o secado por pulverización. Además, las bacterias del género *Bifidobacterium* pueden contener sólo células bacterianas de bacterias del género *Bifidobacterium*, o también pueden contener, además de células bacterianas de bacterias del género *Bifidobacterium*, componentes distintos de células bacterianas (por ejemplo, crioprotectores, protectores de liofilización, protectores de secado por pulverización, etc.). Además, las bacterias del género *Bifidobacterium* también pueden estar en el estado de estar dispersas en un material triturado. El material triturado usado puede ser un almidón tal como almidón de maíz, almidón de patata, o almidón de tapioca, un producto descompuesto de almidón, dextrina, maltodextrina, o similar.

(*Bifidobacterium longumlongum* subespecie *infantis*)

Bifidobacterium longum subespecie *infantis* no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Bifidobacterium longum* subespecie *infantis* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Bifidobacterium longum* subespecie *infantis* incluyen NITE BP-02623, ATCC 15697, ATCC 15702, DSM 20088, y JCM 1222. Como *Bifidobacterium longum* subespecie *infantis*, se prefiere particularmente NITE BP-02623. Una única cepa de *Bifidobacterium longum* subespecie *infantis* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Bifidobacterium breve*)

Bifidobacterium breve no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Bifidobacterium breve* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Bifidobacterium breve* incluyen NITE BP-02622, FERM BP-11175, ATCC 15700, ATCC 15698, DSM 20213, DSM 24706, DSM 13692, DSM 24732, DSM 24736, DSM 16604, JCM 1192, NCC 2705, NCC490, YIT 4010, YIT 4064, SBT 2928, UCC 2003, BBG-001, C 50, R 0070, y BG 7. Como *Bifidobacterium breve*, se prefiere particularmente NITE BP-02622. Una única cepa de *Bifidobacterium breve* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Bifidobacterium longum* subespecie *longum*)

Bifidobacterium longum subespecie *longum* no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Bifidobacterium longum* subespecie *longum* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Bifidobacterium longum* subespecie *longum* incluyen NITE BP-02621, ATCC 15707, ATCC 25962, DSM 20219, y JCM 1217. Como *Bifidobacterium longum* subespecie *longum*, se prefiere particularmente NITE BP-02621. Una única cepa de *Bifidobacterium longum* subespecie *longum* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Bifidobacterium longum* subespecie *suis*)

Bifidobacterium longum subespecie *suis* no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Bifidobacterium longum* subespecie *suis* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Bifidobacterium longum* subespecie *suis* incluyen ATCC 27533, ATCC 27532, DSM 20211, y JCM 1269. Como *Bifidobacterium longum* subespecie *suis*, se prefiere particularmente ATCC 27533. Una única cepa de *Bifidobacterium longum* subespecie *suis* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

(*Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis*)

Bifidobacterium animalis subespecie *lactis* no está particularmente limitado siempre que se ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped. Específicamente, *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* no está particularmente limitado siempre que las bacterias ejerzan efectos beneficiosos sobre el huésped solas o en combinación con otros componentes activos.

Los ejemplos específicos de *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* incluyen DSM 15954 y FERM P-21998. Como *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis*, se prefiere particularmente DSM 15954. Una única cepa de *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* puede usarse sola, y también es posible usar una combinación de dos o más cepas.

A propósito, en lugar de las cepas identificadas por los números de cepa mencionados como ejemplos, también pueden usarse cepas que son sustancialmente iguales a las cepas almacenadas en una colección de cultivos con tales números de cepa. Por ejemplo, en el caso de *Bifidobacterium longum* subespecie *longum*, ATCC 15707 puede reemplazarse por DSM 20219 o JCM 1217. Como indicador de si las cepas son sustancialmente iguales, puede usarse, por ejemplo, la identidad de secuencia de bases génica de ARNr 16S. Cuando las cepas son sustancialmente iguales, la identidad de secuencia de bases génica de ARNr 16S es preferiblemente del 99,86 % o más, más preferiblemente del 99,93 % o más, y todavía más preferiblemente del 100 %. Cuando las cepas son sustancialmente iguales, se prefiere particularmente que tengan una identidad de secuencia de bases génica de ARNr 16S del 100 %, y también son iguales en cuanto a propiedades microbiológicas tales como rendimiento de utilización.

Además, en lugar de las cepas identificadas por los números de cepa mencionados como ejemplos, también pueden usarse derivados de las cepas. Los ejemplos de derivados incluyen cepas reproducidas artificialmente a partir de reservas y cepas generadas espontáneamente a partir de reservas. Los ejemplos de métodos de reproducción incluyen modificación mediante ingeniería genética y modificación mediante tratamiento de mutación. El tratamiento de mutación puede ser, por ejemplo, irradiación con rayos X, irradiación con UV o tratamiento con un agente de mutación tal como N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG), metanosulfonato de etilo (EMS) o metanosulfonato de metilo (MMS). Los ejemplos de cepas generadas espontáneamente a partir de reservas incluyen mutantes generados espontáneamente tras el uso de las reservas. El derivado puede construirse mediante la modificación de una cepa o también puede construirse mediante la modificación de dos o más cepas.

Las bacterias del género *Bifidobacterium* usadas pueden ser un producto disponible comercialmente o también pueden producirse y adquirirse de manera adecuada. Los ejemplos de productos disponibles comercialmente incluyen *Bifidobacterium longum* subespecie *longum* NITE BP-02621, *Bifidobacterium breve* NITE BP-02622, *Bifidobacterium longum* subespecie *infantis* NITE BP-02623, y *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* BB-12 (DSM 15954).

(Método de cultivo para bacterias del género *Bifidobacterium*)

Pueden adquirirse fácilmente células bacterianas de bacterias del género *Bifidobacterium* cultivando bacterias del género *Bifidobacterium*. El método de cultivo no está particularmente limitado siempre que puedan crecer bacterias del género *Bifidobacterium*. Como el método de cultivo, por ejemplo, puede usarse un método usado habitualmente para cultivar bacterias del género *Bifidobacterium* directamente o después de una modificación adecuada. La temperatura de cultivo es preferiblemente de 25 a 50 °C, y más preferiblemente de 35 a 42 °C. El cultivo se realiza preferiblemente en condiciones anaerobias. Por ejemplo, puede realizarse el cultivo mientras se hace pasar un gas no oxidante, tal como dióxido de carbono. Además, también es posible el cultivo en condiciones microaerófilas, tales como cultivo estacionario líquido. Puede realizarse el cultivo, por ejemplo, hasta que las bacterias del género *Bifidobacterium* crezcan hasta el grado deseado.

El medio usado para el cultivo no está particularmente limitado siempre que puedan crecer bacterias del género *Bifidobacterium*. Como medio, por ejemplo, puede usarse un medio usado habitualmente para cultivar bacterias del género *Bifidobacterium* directamente o después de una modificación adecuada. Es decir, como fuentes de carbono, por ejemplo, pueden usarse sacáridos tales como galactosa, glucosa, fructosa, manosa, celobiosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, almidones, hidrolizados de almidón, y melazas residuales según la utilización. Además, también es posible el cultivo en un medio que contiene una proteína de la leche tal como caseína o suero, o un producto de descomposición de los mismos. Como fuentes de nitrógeno, por ejemplo, pueden usarse amoniaco, así como sales de amonio y sales de nitrato, tales como sulfato de amonio, cloruro de amonio, y nitrato de amonio. Además, como sales inorgánicas, pueden usarse, por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, nitrato de calcio, cloruro de manganeso, sulfato ferroso, y similares. Además, también

pueden usarse componentes orgánicos tales como peptona, harina de soja, torta de soja desgrasada, extractos de carne, y extractos de levadura. Además, como medio preparado, puede usarse, por ejemplo, un medio MRS (medio de Man, Rogosa, y Sharpe).

<<Acrónimos de Colecciones de Cultivo>>

Los acrónimos de colecciones de cultivo son los siguientes.

NITE: Depositario de Microorganismos de Patentes de NITE (NPMD), Instituto Nacional de Tecnología y Evaluación

FERM: Depositario de Microorganismos de Patentes de NITE (NPMD), Instituto Nacional de Tecnología y Evaluación

ATCC: Colección Americana de Cultivos Tipo

DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ, Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares)

JCM: Colección Japonesa de Microorganismos, Riken BRC

NCC: Nestle S.A.

YIT: Yakult Honsha Co., Ltd.

SBT: MEGMILK Snow Brand Co., Ltd.

OLL: Meiji Co., Ltd.

R: LALLEMAND Inc.

<<Probióticos>>

El polvo bacteriano pueden ser células vivas o células muertas. En el caso en el que el polvo bacteriano sean células vivas, puede esperarse que dicho polvo bacteriano funcione como probiótico.

A propósito, “probióticos” es un término propuesto en oposición a “antibióticos”, y deriva del término “probiosis”, que significa vivir juntos. La definición de probióticos actualmente aceptada ampliamente es “microorganismos vivos que mejoran el equilibrio de la flora intestinal y afectan de ese modo beneficiosamente a la salud del huésped”.

<<Contenido de polvo bacteriano>>

El contenido del polvo bacteriano en la composición de la invención es preferiblemente del 0,5 al 10 % en masa, más preferiblemente del 1 al 5 % en masa, basado en la masa total de la composición.

Cuando el contenido del polvo bacteriano es del 0,5 % en masa o más basado en la masa total de la composición, puede ejercerse más el efecto ventajoso de la presencia del polvo bacteriano en la composición de la invención.

Cuando el contenido del polvo bacteriano es del 10 % en masa o menos basado en la masa total de la composición, el efecto ventajoso de la presencia del polvo bacteriano en la composición de la invención y el coste están más equilibrados.

<Aceite graso>

Como aceite graso en la invención, se prefiere un aceite que sea líquido en el transcurso de la distribución de la composición de la invención, por ejemplo, al menos en una parte de un intervalo de 0 a 40 °C, y se prefiere más un aceite que sea líquido dentro del intervalo completo de 0 a 40 °C.

Como aceite graso, se prefiere un aceite comestible.

Los ejemplos de aceites comestibles incluyen aceite de avellana, aceite de oliva, aceite de prímula, aceite de calabaza, aceite de salvado de arroz, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de coco (incluyendo aceite de corozo, aceite de palma enana americana, etc.), aceite de palma, aceite de palmiste, triglicérido de cadena media (TCM), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), aceite de linaza, aceite de perilla, aceite de germen de arroz, aceite de germen de trigo, aceite de coco, aceite de semillas de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, aceite de almendra, aceite de anacardo, aceite de nuez de macadamia, aceite de mongongo, aceite de nuez pacana, aceite de piñones, aceite de pistacho,

aceite de nuez, aceite de calabaza vinatera, aceite de calabaza de búfalo, aceite de pepitas de calabaza, aceite de pepitas de sandía, extracto de bayas de acai, aceite de pepitas de grosella negra, aceite de semillas de borraja, aceite de onagra, aceite de amaranto, aceite de albaricoque, aceite de pepitas de manzana, aceite de argán, aceite de alcachofa, aceite de aguacate, aceite de babasú, aceite de moringa, aceite de castaño del Cabo, aceite de algarroba, aceite de cilantro, aceite de dika, aceite de sésamo bastardo, aceite de pepitas de uva, aceite de cáñamo, aceite de semillas de semillas de capoc, aceite de *Lallemantia*, aceite de marula, aceite de semillas de *meadowfoam*, aceite de mostaza, aceite de okra (aceite de hibisco), aceite de papaya, aceite de semillas de amapola, aceite de semillas de pruno, aceite de quinoa, aceite de semillas de níger, aceite de semillas de té (aceite de semillas de camelia), aceite de cardo, aceite de pepitas de tomate, aceite de krill, y aceite de borraja.

Se prefiere que el aceite graso sea al menos uno seleccionado del grupo que consiste en aceite de oliva, aceite de salvado de arroz, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de cártamo, y triglicérido de cadena media (TCM), más preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en triglicérido de cadena media (TCM), aceite de maíz, y aceite de girasol, y de manera particularmente preferible triglicérido de cadena media (TCM).

El aceite graso está contenido preferiblemente en una cantidad del 90 % en masa o más, más preferiblemente el 92 % en masa o más, y todavía más preferiblemente el 95 % en masa o más, basado en la masa total de la composición.

<Polvo microscópico y tensioactivo>

En la composición de la invención, un polvo microscópico y un tensioactivo actúan como agentes antiapelmazantes.

Un agente antiapelmazante actúa para prevenir o disolver el apelmazamiento.

<<Polvo microscópico>>

El polvo microscópico es un polvo de tamaño microscópico de una sustancia orgánica o una sustancia inorgánica, y es preferiblemente un polvo de tamaño microscópico de una sustancia orgánica.

Como polvo de tamaño microscópico de una sustancia orgánica, por ejemplo, puede mencionarse celulosa microcristalina. La celulosa microcristalina es celulosa de alta pureza obtenida hidrolizando y purificando pasta con un ácido.

El tamaño de partícula promedio de las partículas de celulosa microcristalina es, como D50, preferiblemente de 1 a 200 μm, y más preferiblemente de 5 a 100 μm.

El tamaño de partícula promedio (D50) de las partículas microscópicas es un tamaño de partícula del 50 % en volumen calculado a partir de la distribución de volumen determinada mediante un método de difracción/dispersión láser.

Como polvo de tamaño microscópico de una sustancia inorgánica, por ejemplo, pueden mencionarse fosfato tricálcico y dióxido de silicio fino. El fosfato tricálcico es una sal de ácido fosfórico y calcio representada por la fórmula química $Ca_3(PO_4)_2$. El fosfato tricálcico tiene tres tipos de polimorfos. En la composición de la invención, se observa β-fosfato tricálcico (β-TCP), que es un polimorfo de baja temperatura. El dióxido de silicio fino son partículas microscópicas de sílice. Como polvo de tamaño microscópico de la invención, se usa fosfato tricálcico o celulosa microcristalina.

El tamaño de partícula promedio de las partículas de fosfato tricálcico es, como D50, preferiblemente de 1 a 200 μm, y más preferiblemente de 1 a 50 μm.

Según la invención, el polvo microscópico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en celulosa microcristalina y fosfato tricálcico.

En la composición de la invención, un polvo microscópico y un tensioactivo son adecuados para su uso como agentes antiapelmazantes.

<<Tensioactivo>>

El tensioactivo es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo aniónico y un tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7.

(Tensioactivo aniónico)

Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen tensioactivos aniónicos de ácido carboxílico, alquilbencenosulfonatos lineales de sodio, tensioactivos aniónicos de ácido sulfónico, tensioactivos aniónicos de sulfato, y tensioactivos aniónicos de fosfato.

El tensioactivo aniónico es preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en sales de ácidos grasos C_{12-18}, más preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en estearatos metálicos, todavía más preferiblemente una sal de metal alcalinotérreo de ácido esteárico, y de manera particularmente preferible estearato de calcio o estearato de magnesio.

Una única clase de tensioactivo aniónico puede usarse sola, o también es posible usar una combinación de dos o más clases.

(Tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7)

El tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7 es preferiblemente un éster de ácidos grasos que tiene un valor de HLB de menos de 7, más preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sacarosa que tienen un valor de HLB de menos de 7 y ésteres de ácidos grasos de glicerina que tienen un valor de HLB de menos de 7, y todavía más preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sacarosa que tienen un valor de HLB de menos de 7.

Una única clase de tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7 puede usarse sola, o también es posible usar una combinación de dos o más clases.

<<Contenido de polvo microscópico y tensioactivo>>

El contenido del polvo microscópico y del agente tensioactivo en la composición de la invención es preferiblemente tal que el contenido total del polvo microscópico y el tensioactivo sea del 0,01 al 10 % en masa, más preferiblemente del 0,1 al 5 % en masa, y todavía más preferiblemente del 0,5 al 2 % en masa, basado en la masa total de la composición.

<Aditivo>

La composición de la invención puede contener adicionalmente aditivos además de los componentes descritos anteriormente.

Los ejemplos de aditivos incluyen antioxidantes, excipientes, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, estabilizantes, agentes aromatizantes, y diluyentes.

Como antioxidante, se prefiere la vitamina E. La vitamina E es una vitamina liposoluble y fácil de disolver en el aceite graso en la composición.

<Uso pretendido de la composición>

La composición de la invención puede ser una composición de complemento, una composición de bebida, una composición alimenticia, una composición farmacéutica, o una composición de pienso para animales, por ejemplo, pero se usa preferiblemente como una composición de complemento.

En el caso en el que la composición de la invención se usa como una composición de complemento, la composición de la invención puede ingerirse directamente. Alternativamente, la composición de la invención también puede añadirse a un complemento, una bebida, un alimento, un producto farmacéutico, o un pienso para animales e ingerirse.

En el caso en el que la composición de la invención se añade a un complemento, una bebida, un alimento, un producto farmacéutico, o un pienso para animales, se prefiere que algunas gotas de la composición de la invención se añadan a una bebida, un alimento, un producto farmacéutico, o un pienso para animales, y así se utilicen.

[Método de producción]

La composición de la invención puede producirse mezclando un polvo bacteriano, un aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo en un orden arbitrario.

La composición de la invención también puede producirse mezclando una suspensión que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso con al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo.

El método de mezclado no está particularmente limitado. Por ejemplo, el polvo bacteriano, el aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo pueden mezclarse mediante agitación.

En el caso en el que la composición contiene aditivos, el orden de mezclado de los mismos no está particularmente limitado. Los aditivos pueden estar contenidos en una suspensión que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso, y también es posible añadir los aditivos en el momento de mezclar al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo.

[Uso]

El polvo microscópico y el tensioactivo descritos anteriormente son adecuados para su uso como agentes antiapelmazantes.

[Ejemplos]

Más adelante en el presente documento, la invención se describirá con más detalle con referencia a los ejemplos. Sin embargo, la invención no se limita a los siguientes ejemplos. A menos que se cambie la esencia de la invención, son posibles diversas modificaciones.

[Preparación de polvo bacteriano]

<Polvo bacteriano 1>

Se inoculó *Bifidobacterium infantis* NITE BP-02623 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y el almidón de tapioca en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo bacteriano de bacterias *Bifidobacterium*.

<Polvo bacteriano 2>

Se inoculó *Bifidobacterium breve* NITE BP-02622 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante 120 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y almidón de tapioca en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo bacteriano de bacterias *Bifidobacterium*.

<Polvo bacteriano 3>

Se inoculó *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* NITE BP-02621 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y almidón de maíz en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo bacteriano de bacterias *Bifidobacterium*.

<Polvo bacteriano 4>

Se inoculó *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* NITE BP-02621 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y almidón de patata en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo bacteriano de bacterias *Bifidobacterium*.

<Polvo bacteriano 5>

Se inoculó *Lactobacillus gasseri* NITE BP-01669 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa

Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y almidón de maíz en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo de bacterias de ácido láctico.

<Polvo bacteriano 6>

Se inoculó *Lactobacillus acidophilus* NITE BP-01695 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y almidón de maíz en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo de bacterias de ácido láctico.

<Polvo bacteriano 7>

Se inoculó *Lactobacillus paracasei* NITE BP-01633 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa celular bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado. Se trituraron el polvo liofilizado obtenido y maltodextrina en una razón de 1:3 (p/p), dando de ese modo un polvo de bacterias de ácido láctico.

<Polvo bacteriano 8>

Se inoculó *Lactobacillus helveticus* NITE BP-01671 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Se mezclaron una disolución bacteriana concentrada y un producto descompuesto de almidón en una razón de 1:4 (en una base de sólidos, p/p) y después se secaron por pulverización usando una secadora por pulverización, dando de ese modo un polvo de bacterias de ácido láctico.

<Polvo bacteriano 9>

Se inoculó *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* NITE BP-02623 en un medio que contenía una proteína, un aminoácido, y una fuente de azúcar, se cultivó a de 32 a 41 °C durante de 5 a 24 horas, y luego se centrifugó para recoger células bacterianas (células bacterianas húmedas) de la disolución de cultivo. Usando un liofilizador (fabricado por Kyowa Vacuum Engineering Co., Ltd.), se realizó liofilización durante de 18 a 96 horas, y se molió físicamente la masa bacteriana liofilizada para dar un polvo liofilizado.

[Método de evaluación de la dispersabilidad]

Se colocaron 10 ml de la composición preparada en un tubo de ensayo compuesto por vidrio, seguido por sellado con un tapón de goma. Se dejó en reposo el tubo de ensayo que contenía la composición en un incubador ajustado a 5 °C durante 30 días. Se mezcló la composición, después de estar en reposo, mediante inversión 20 veces a una velocidad de aproximadamente una vez por segundo, y luego se observó la superficie inferior del tubo de ensayo.

Según los siguientes criterios, se evaluó la dispersabilidad en una escala de cinco grados de A a E.

A: No permaneció polvo bacteriano ni portador en la superficie inferior.

B: El polvo bacteriano o portador permaneció más en la superficie inferior que en A.

C: El polvo bacteriano o portador permaneció más en la superficie inferior que en B.

D: El polvo bacteriano o portador permaneció más en la superficie inferior que en C.

E: La suspensión fue difícil.

[Ejemplo de referencia]

Se mezcló el 2,5 % en masa de almidón de tapioca (ejemplo de referencia 1) o maltodextrina (ejemplo de referencia 2) con el 97,5 % en masa de un aceite MCT (S9013) para preparar el 100 % en masa de una composición.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 1.

[Tabla 1]

	Ejemplo de referencia 1	Ejemplo de referencia 2
Evaluación	C	B

En el ejemplo de referencia 1 y el ejemplo de referencia 2 en los que no se combinó polvo bacteriano, la dispersabilidad del portador fue excelente. Esto sugirió que el apelmazamiento de un polvo bacteriano en las gotas de aceite estaba provocado por las propias células bacterianas contenidas en el polvo bacteriano.

[Ejemplos y ejemplos comparativos]

<Ejemplo A1 a ejemplo A22>

El ejemplo A1, y los ejemplos A5 a A7 son ejemplos comparativos.

En la razón mostrada en la tabla 2 o la tabla 3 (unidad: % en masa), se mezclaron un polvo bacteriano, un polvo microscópico o un tensioactivo, y un aceite graso y se formaron en un líquido de dispersión homogéneo usando un agitador magnético. De los tensioactivos, se añadió B-100D a un aceite graso, se disolvió en un baño caliente a 90 °C, y se devolvió a temperatura ambiente, y luego se añadió un polvo bacteriano y se mezcló uniformemente.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 2 y la tabla 3.

[Tabla 2]

		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 1	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Celulosa microcristalina		0,5	1,0	2,0						
	Dióxido de silicio fino					0,5	1,0	2,0			
	Estearato de Ca								0,5	1,0	2,0
	B-100D										
	S-170										
	S-770										
	S-1570										
Aceite graso	S9013	97,5	97,0	96,5	95,5	97,0	96,5	95,5	97,0	96,5	95,5
Evaluación	Dispersabilidad	E	C	C	C	A	A	A	B	B	B

[Tabla 3]

		A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 1	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Celulosa microcristalina												
	Dióxido de silicio fino												
	Estearato de Ca												
	B-100D	0,5	1,0	2,0									
	S-170				0,5	1,0	2,0						
	S-770							0,5	1,0	2,0			
	S-1570										0,5	1,0	2,0
Aceite graso	S9013	97,0	96,5	95,5	97,0	96,5	95,5	97,0	96,5	95,5	97,0	96,5	95,5
Evaluación	Dispersabilidad	A	A	A	C	C	C	D	D	D	D	D	D

En el ejemplo A2 al ejemplo A22 en los que se combinó un polvo microscópico o un tensioactivo, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente en comparación con el ejemplo A1 en el que no se combinó ninguno de ellos.

En el ejemplo A8 al ejemplo A10 en los que se combinó un tensioactivo aniónico (estearato de Ca), las calificaciones de dispersabilidad fueron todas B, es decir, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente en comparación con el ejemplo A1.

En el ejemplo A11 al ejemplo A16 en los que se combinó un tensioactivo no iónico que tenía un valor de HLB de menos de 7 (B-100D, S-170), la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente en comparación con el ejemplo A17 al ejemplo A22 en los que se combinó un tensioactivo no iónico que tenía un valor de HLB de 7 o más (S-770, S-1570).

<Ejemplo B1 al ejemplo B9>

El ejemplo B1 es un ejemplo comparativo, y el ejemplo B2 al ejemplo B9 son inventivos.

En la razón mostrada en la tabla 4 (unidad: % en masa), se mezclaron un polvo bacteriano, un polvo microscópico o un tensioactivo, y un aceite graso y se formaron en un líquido de dispersión homogéneo usando un agitador magnético. De los tensioactivos, se añadieron L-195 y POS-135 a un aceite graso, se disolvieron en un baño caliente a 90 °C, y se devolvieron a temperatura ambiente, y luego se añadió un polvo bacteriano y se mezcló uniformemente.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 4.

[Tabla 4]

		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 1	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Fosfato de tri-Ca		1,0							
	Mg de estearato			1,0						
	P-170				1,0					
	0-170					1,0				
	L-195						1,0			
	B-370F							1,0		
	ER-190								1,0	
	POS-135									1,0
Aceite graso	S9013	97,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5
Evaluación	Dispersabilidad	E	A	A	B	B	C	A	C	A

En el ejemplo B2 al ejemplo B9 en los que se combinó un polvo microscópico o un tensioactivo, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente en comparación con el ejemplo B1 en el que no se combinó ninguno de ellos.

En el ejemplo B2 en el que se combinó fosfato de tri-Ca como polvo microscópico, el ejemplo B3 en el que se combinó estearato de Mg como tensioactivo aniónico, el ejemplo B7 en el que se combinó B-370F (valor de HLB: 3) como tensioactivo no iónico, y el ejemplo B9 en el que se combinó POS-135 (valor de HLB: 1) como tensioactivo no iónico, las calificaciones de dispersabilidad fueron A, es decir, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue particularmente excelente.

<Ejemplo C1 al ejemplo C11>

El ejemplo C1 es un ejemplo comparativo, y el ejemplo C2 al ejemplo C11 son inventivos.

En la razón mostrada en la tabla 5 (unidad: % en masa), se mezclaron un polvo bacteriano, un polvo microscópico o un tensioactivo, y un aceite graso y se formaron en un líquido de dispersión homogéneo usando un agitador magnético. De los tensioactivos, se añadió B-100D a un aceite graso, se disolvió en un baño caliente a 90 °C, y se devolvió a temperatura ambiente, y luego se añadió un polvo bacteriano y se mezcló uniformemente.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 5.

[Tabla 5]

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11

		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 2	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Celulosa microcristalina		0,5	1,0	2,0							
	Fosfato de tri-Ca					1,0						
	Estearato de Ca						1,0					
	Mg de estearato							1,0				
	B-100D								1,0			
	S-170									1,0		
	P-170										1,0	
	B-370F											1,0
Aceite graso	S9013	97,5	97,0	96,5	95,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5	96,5
	Evaluación	E	D	C	C	A	B	B	A	C	B	A

En el ejemplo C2 al ejemplo C11 en los que se combinó un polvo microscópico o un tensioactivo, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente en comparación con el ejemplo C1 en el que no se combinó ninguno de ellos.

En el ejemplo C5 en el que se combinó fosfato de tri-Ca como polvo microscópico, el ejemplo C8 en el que se combinó B-100D (valor de HLB: 3) como tensioactivo no iónico, y el ejemplo C11 en el que se combinó B-370F (valor de HLB: 3) como tensioactivo no iónico, las calificaciones de dispersabilidad fueron A, es decir, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue particularmente excelente.

<Ejemplo D1 al ejemplo D12>

El ejemplo D1, el ejemplo D3, el ejemplo D5, el ejemplo D7, el ejemplo D9, y el ejemplo D11 son ejemplos comparativos, y el ejemplo D2, el ejemplo D4, el ejemplo D6, el ejemplo D8, el ejemplo D10, y el ejemplo D12 son inventivos.

En la razón mostrada en la tabla 6 (unidad: % en masa), se mezclaron un polvo bacteriano, un polvo microscópico o un tensioactivo, y un aceite graso y se formaron en un líquido de dispersión homogéneo usando un agitador magnético.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 6.

[Tabla 6]

		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 3	2,5	2,5										
	Polvo bacteriano 4			2,5	2,5								
	Polvo bacteriano 5					2,5	2,5						
	Polvo bacteriano 6							2,5	2,5				
	Polvo bacteriano 7									2,5	2,5		
	Polvo bacteriano 8											2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Estearato de Ca		1,0		1,0		1,0		1,0		1,0		1,0
Aceite graso	S9013	97,5	96,5	97,5	96,5	97,5	96,5	97,5	96,5	97,5	96,5	97,5	96,5
Evaluación	Dispersabilidad	E	A	E	B	E	A	E	B	E	B	E	B

En el ejemplo D2, el ejemplo D4, el ejemplo D6, el ejemplo D8, el ejemplo D10, y el ejemplo D12 en los que se combinó estearato de Ca, las calificaciones de dispersabilidad fueron A o B, es decir, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente.

Entre los ejemplos que usan un polvo bacteriano liofilizado (el ejemplo D2, el ejemplo D4, el ejemplo D6, el ejemplo D8, y el ejemplo D10) y el ejemplo que usa un polvo bacteriano secado por pulverización (el ejemplo D12), no se observó ninguna diferencia significativa en la dispersabilidad tras la adición de estearato de Ca.

<Ejemplo E1 y ejemplo E2>

El ejemplo E1 es un ejemplo comparativo, y el ejemplo E2 es inventivo.

En la razón mostrada en la tabla 7 (unidad: % en masa), se mezclaron un polvo bacteriano, un polvo microscópico o un tensioactivo, y un aceite graso y se formaron en un líquido de dispersión homogéneo usando un agitador magnético.

Usando las composiciones preparadas, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 7.

[Tabla 7]

		E1	E2
Polvo bacteriano	Polvo bacteriano 9	2,5	2,5
Polvo microscópico o tensioactivo	Estearato de Ca		1,0
Aceite graso	S9013	97,5	96,5
Evaluación	Dispersabilidad	E	B

En el ejemplo E2 en el que se combinó estearato de Ca, la calificación de dispersabilidad fue B, es decir, la dispersabilidad del polvo bacteriano fue excelente.

Incluso en el caso de usar un polvo bacteriano sin material triturado mezclado, la adición de estearato de Ca dio como resultado una dispersabilidad mejorada.

<Ejemplo F1 y Ejemplo F2>

El ejemplo F1 es un ejemplo comparativo, y el ejemplo F2 es inventivo.

Se usó una composición de complemento disponible comercialmente (Babers' Pro Bio Bifidus M1, vendida por Bean Peow Co., Ltd.), directamente (el ejemplo F1) o después de añadir el 1,0 % en masa de estearato de Ca (el ejemplo F2), para preparar una composición para evaluación.

La composición de complemento anterior es una composición preparada a partir de un polvo bacteriano de bifidobacterias (*Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* BB-12: DSM 15954), aceite de girasol, un antioxidante (vitamina E), y ácido cítrico.

Usando las composiciones preparadas para evaluación, se evaluó la dispersabilidad según el método de evaluación descrito anteriormente. Se muestran los resultados de evaluación en la tabla 8.

[Tabla 8]

	F1	F2
Evaluación	E	C

Incluso en el caso de una composición de complemento comercial, la adición de estearato de Ca dio como resultado una dispersabilidad mejorada.

Los términos en la tabla 2 a la tabla 7 tienen los siguientes significados.

(Polvo bacteriano)

Polvo bacteriano 1: Polvo bacteriano 1 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 2: Polvo bacteriano 2 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 3: Polvo bacteriano 3 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 4: Polvo bacteriano 4 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 5: Polvo bacteriano 5 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 6: Polvo bacteriano 6 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 7: Polvo bacteriano 7 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 8: Polvo bacteriano 8 preparado como anteriormente

Polvo bacteriano 9: Polvo bacteriano 9 preparado como anteriormente

(Aceite graso)

S9013: triglicérido de cadena media (MCT Oil S9013, fabricado por Taiyo Yushi Corp.)

(Polvo microscópico)

Celulosa microcristalina: CEOLUS FD-F20 (fabricado por Asahi Kasei Corporation)

Fosfato de tri-Ca: Fosfato tricálcico (fabricado por Taihei Chemical Industrial Co., Ltd.)

Dióxido de silicio fino: SYLOPAGE 720 (fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd.)

(Tensioactivo)

Estearato de Ca: Estearato de calcio (fabricado por Taihei Chemical Industrial Co., Ltd.)

Estearato de Mg: Estearato de magnesio (fabricado por San-Ei Gen F.F.I Inc.)

B-100D: éster de ácidos grasos de glicerina (éster de poliglicerol B-100D de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 3)

S-170: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar S-170 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

P-170: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar P-170 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

O-170: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar O-170 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

L-195: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar L-195 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

B-370F: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar B-370F de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 3)

ER-190: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar ER-190 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

POS-135: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar POS-135 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 1)

S-770: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar S-770 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 7)

S-1570: éster de ácidos grasos de sacarosa (éster de azúcar S-1670 de Ryoto, fabricado por Mitsubishi-Chemical Foods Corporation; valor de HLB: 16)

[Descripción de los resultados]

En los ejemplos, se observó eficacia en la supresión de la precipitación, deposición, y apelmazamiento de un polvo bacteriano.

Hubo una tendencia a que los combinados con un tensioactivo mostraran efectos excelentes.

A propósito, a partir de la comparación entre composiciones combinadas con un polvo bacteriano y composiciones combinadas únicamente con un portador, se confirmó que las composiciones combinadas con un polvo bacteriano tendían a permanecer más sobre la superficie inferior. Por tanto, una composición que contiene un polvo bacteriano tiene una alta necesidad de disolver precipitación/deposición y apelmazamiento.

[Aplicabilidad industrial]

La composición de la invención puede ingerirse directamente como una composición de complemento o añadirse a un alimento, y usarse de ese modo.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende:

un polvo bacteriano;

un aceite graso; y

al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo, en la que el polvo microscópico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en celulosa microcristalina y fosfato tricálcico,

en la que el aceite graso está contenido en una cantidad del 90 % en masa o más, basado en la masa total de la composición

y en la que el tensioactivo contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo aniónico y un tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7.

2. Composición según la reivindicación 1, que es una suspensión.

3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el polvo bacteriano contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en células vivas de bacterias de ácido láctico, células muertas de bacterias de ácido láctico, células vivas de bacterias del género *Bifidobacterium* y células muertas de bacterias del género *Bifidobacterium*.

4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, en la que el tensioactivo aniónico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en estearatos metálicos, y el tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7 contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ésteres de ácidos grasos de sacarosa que tienen un valor de HLB de menos de 7 y ésteres de ácidos grasos de glicerina que tienen un valor de HLB de menos de 7.

5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el polvo bacteriano está contenido en una cantidad del 0,5 al 10 % en masa basado en la masa total de la composición.

6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además un aditivo.

7. Método para producir la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende:

mezclar un polvo bacteriano, un aceite graso, y al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo en un orden arbitrario; o

mezclar una suspensión que contiene un polvo bacteriano y un aceite graso con al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo.

8. Uso de al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un polvo microscópico y un tensioactivo como agente antiapelmazante para un polvo bacteriano en una composición que contiene un aceite graso, en el que el polvo microscópico contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en celulosa microcristalina y fosfato tricálcico,

en el que el aceite graso está contenido en una cantidad del 90 % en masa o más,

y en el que el tensioactivo contiene al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo aniónico y un tensioactivo no iónico que tiene un valor de HLB de menos de 7.