



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 164 299**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

A23L 1/164 (2006.01)

A23L 1/03 (2006.01)

A23K 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA

T5

96 Número de solicitud europea: **97203997 .8**

96 Fecha de presentación : **18.12.1997**

97 Número de publicación de la solicitud: **0862863**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.09.1998**

54 Título: **Producto cereal que contiene probióticos.**

30 Prioridad: **09.01.1997 EP 97200047**
19.03.1997 EP 97200830

45 Fecha de publicación de la mención y de la
traducción de patente europea: **16.02.2002**

45 Fecha de la publicación de la mención de la
patente europea modificada BOPI: **01.03.2009**

45 Fecha de publicación de la traducción de patente
europea modificada: **01.03.2009**

73 Titular/es: **Société des produits NESTLÉ S.A.**
Case Postale 353
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es: **Cavadini, Christof;**
Balleve, Olivier y
Gaier, Walter

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 164 299 T5

DESCRIPCIÓN

Producto cereal que contiene probióticos.

5 Descripción para los siguientes estados contractuales: GB

Campo de la invención

10 Esta invención se refiere a un producto cereal listo-para-comer, que contiene un microorganismo probiótico, por ejemplo, alimentos para animales domésticos, cereales para desayuno, cereales para niños o alimentos de preparación rápida y sencilla. En la práctica el producto cereal tiene un efecto benéfico en el tracto intestinal de la persona o animal que lo consume, y por lo tanto para la persona o animal. La invención se refiere también a un procedimiento para producir el producto cereal, y a los métodos para promover efectos beneficiosos en los tractos gastrointestinales de humanos y animales.

15 **Antecedentes de la invención**

Los microorganismos probióticos son microorganismos que afectan beneficiosamente al anfitrión mejorando su equilibrio microbiano intestinal (Fuller, R.; 1989; *J. Applied Bacteriology*, 66: 365-378). En general, los microorganismos probióticos producen ácidos orgánicos tales como el ácido láctico y ácido acético los cuales inhiben el crecimiento de bacterias patógenas tales como el *Clostridium perfringens* y *Helicobacter pylori*. Por consiguiente, las bacterias probióticas se cree que son de utilidad en el tratamiento y prevención de las condiciones causadas por las bacterias patógenas. Además, los microorganismos probióticos se cree que inhiben el crecimiento y actividad de las bacterias de la putrefacción y por lo tanto la producción de compuestos de amina tóxicos. También se cree que las bacterias probióticas activan la función inmunológica del anfitrión.

Por lo tanto, existe un considerable interés en incluir microorganismos probióticos en los productos alimenticios. Por ejemplo, muchos productos con leche fermentada que contienen microorganismos probióticos están disponibles comercialmente. Habitualmente estos productos están en forma de yogourts, y un ejemplo es el yogourt LCI® (Société des Produits Nestlé, S.A.). Muchas fórmulas para niños y de suplementos que contienen microorganismos probióticos se encuentran también comercialmente disponibles; por ejemplo, la fórmula BIO NAN® (Société des Produits Nestlé, S.A.).

De forma similar, para los animales, ha habido interés en incluir microorganismos probióticos en los alimentos para animales. Por ejemplo, la patente rusa 2018313 describe un alimento animal en polvo, secado por pulverización, el cual se basa sobre la leche y el cual contiene ciertas bifidobacterias y estreptococos. Este pienso animal está pensado primariamente para el ganado, aunque se menciona que dicho pienso puede darse también a los animales domésticos.

40 Sin embargo, hay dos cuestiones principales en la incorporación de microorganismos probióticos en los productos alimenticios. En primer lugar, el producto alimenticio debe estar en una forma que sea sabroso para el consumidor. En segundo lugar, los microorganismos probióticos deben permanecer viables durante el almacenamiento. La segunda cuestión es particularmente problemática para los productos cereales listos-para-comer. Estos productos cereales, a diferencia de las leches fermentadas, necesitan tener una vida larga al almacenamiento; por ejemplo, por lo menos un año, mientras que el conteo de células para muchos microorganismos probióticos, puede disminuir completamente en uno o dos días. Este es particularmente el caso cuando la actividad al agua de los productos alimenticios está por encima de aproximadamente 0,5. Este es normalmente el caso para la comida seca para animales domésticos.

La patente US n° 4.943.437 de Kvant describe una técnica para el mezclado de un material biológicamente activo con una base de un producto alimenticio, de tal manera que el primero es homogéneamente dispersado en el último y es evidente como recubrimiento de la superficie a baja concentración. El material biológicamente activo se dispersa en primer lugar uniformemente en un vehículo hidrofóbico tal como un aceite adecuado, antes del mezclado. No describe cómo proporcionar un producto listo-para-comer en el que está incluido un probiótico.

Por lo tanto, existe la necesidad de un producto cereal listo-para-comer, que contenga un microorganismo probiótico, que sea altamente sabroso y que sea estable al almacenamiento.

55 **Resumen de la invención**

En consecuencia, en un aspecto, esta invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, que contiene una matriz de almidón gelatinizado, el cual incluye un relleno que contiene un microorganismo probiótico, el cual relleno comprende un sustrato de soporte. De acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, el cual comprende una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento que contiene un microorganismo probiótico, el cual recubrimiento comprende un sustrato de soporte, el cual contiene el microorganismo, en donde el producto contiene 0,5-20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato de soporte.

65 Se ha descubierto que los organismos probióticos permanecen viables durante extensos períodos de tiempo cuando están formulados dentro de un recubrimiento o un relleno en un producto cereal seco. Esto es sorprendente dado que los microorganismos probióticos mueren de ordinario muy rápidamente. Este es particularmente el caso de los

alimentos cocidos y secos para animales domésticos, que generalmente tienen una actividad al agua por encima de aproximadamente 0,5; niveles a los cuales los micro-organismos probióticos mueren ordinariamente con rapidez. Por lo tanto, la invención tiene la ventaja de un producto cereal listo-para-comer el cual es altamente sabroso y el cual contiene una fuente de microorganismos probióticos, estable al almacenamiento.

El producto cereal puede estar en forma de un alimento seco para animales domésticos, un cereal para desayuno, un cereal para niños o un alimento de preparación rápida y sencilla, tal como una barra de cereales. Para alimentos humanos, la matriz de almidón gelatinizado es preferible en forma de copos o en forma expandida. Para alimentos para animales domésticos, la matriz de almidón gelatinizado es preferible en forma de pedazos o píldoras. La matriz gelatinizada se obtiene de preferencia por extrusión cociendo una fuente de almidón.

De preferencia, el recubrimiento comprende un sustrato de un vehículo que introduce el microorganismo probiótico en el propio recubrimiento. El relleno puede también comprender un sustrato de un vehículo que introduce el microorganismo probiótico en el propio relleno. Por ejemplo el sustrato del vehículo puede ser digerido de proteína, grasa, sólidos de la leche, azúcar o un agente saborizante en partículas.

En otro aspecto, esta invención proporciona un procedimiento para la preparación de un producto cereal seco, listo-para-comer, comprendiendo este procedimiento el cocido de una fuente de almidón para formar una matriz de almidón gelatinizado; conformando la matriz de almidón gelatinizado en pedazos y secando estos pedazos; y recubriendo o llenando los pedazos con un sustrato que contiene microorganismos probióticos.

En una versión, la matriz de almidón gelatinizado se conforma en pedazos y se secan por extrusión de la matriz gelatinizada para formar un extrusionado cocido y cortando y secando el extrusionado cocido para formar pedazos secos. La matriz gelatinizada puede obtenerse para expandir después de la extrusión para formar pedazos expandidos, después de cortar y secar. Alternativamente, los pedazos pueden someterse al floculado para formar pedazos floculados.

En otra versión, la matriz de almidón gelatinizado puede estar conformada en pedazos, secando mediante un secado en cilindros esta matriz de almidón gelatinizado para formar copos.

En otra versión, la matriz de almidón gelatinizado puede estar conformada en pedazos, secando por extrusión la matriz gelatinizada para formar un extrusionado cocido que contiene una abertura; y cortando y secando los pedazos. De preferencia, la matriz de almidón gelatinizado se extrusiona con un orificio central para recibir un relleno.

Breve descripción de los dibujos

Se describen ahora, varias versiones de la invención, solamente a vía de ejemplos, con referencia a los dibujos, en los cuales:

La figura 1 es un gráfico que ilustra la viabilidad del *Bacillus coagulans* en varios recubrimientos sobre un alimento para animales domésticos, seco, cocido; y

La figura 2 es un gráfico que ilustra la viabilidad del *Bacillus subtilis* en varios recubrimientos sobre un alimento para animales domésticos, seco, cocido.

Descripción detallada de las versiones preferidas de la invención

Se describen ahora varias versiones de la invención, solamente a vía de ejemplo. La invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, en forma de una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento o un relleno. El recubrimiento o relleno contiene un microorganismo probiótico. El microorganismo probiótico puede seleccionarse entre uno o más micro-organismos adecuados para el consumo humano o animal y el cual es capaz de mejorar el equilibrio microbiano en el intestino humano o animal.

Ejemplos de microorganismos probióticos adecuados incluyen levaduras tales como *Saccharomyces*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia* y *Torulopsis*, hongos como *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Penicillium* y *Torulopsis* y bacterias tales como los géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus* y *Lactobacillus*. Ejemplos específicos de microorganismos probióticos adecuados son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus casei subsp. casei*, *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrückii subsp. lactis*, *Lactobacillus farciminius*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* (*Lactobacillus* GG), *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus lactis*, *Micrococcus varians*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus halophilus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus*, *Staphylococcus carnosus*, y *Staphylococcus xylosus*. Los microorganismos probióticos están de preferencia en forma de polvo seco, especialmente en forma de esporas para los microorganismos que forman esporas. Además, si se desea, los microorganismos probióticos pueden estar encapsulados para aumentar más la probabilidad de supervivencia; por ejemplo, en una matriz de azúcar, una matriz de grasa o una matriz de un polisacárido.

El producto cereal seco, listo-para-comer, puede obtenerse a partir de cualesquiera ingredientes adecuados, tales como los empleados habitualmente en los productos cereales secos, listos-para-comer. Uno de estos ingredientes es una fuente de almidón. Fuentes adecuadas de almidón son, por ejemplos, las harinas de cereales, tales como maíz, arroz, trigo, remolacha, cebada, soja y avena. También pueden emplearse mezclas de estas harinas. Las harinas pueden ser harinas completas o pueden ser harinas de las que se han eliminado ciertas fracciones; por ejemplo, puede eliminarse la fracción del germen o la fracción de la cáscara. La harina de arroz, harina de maíz y harina de trigo son particularmente adecuadas, bien solas o bien en combinación. La fuente de almidón será escogida con rigor sobre la base de su valor nutricional, consideraciones sobre su sabor, y el tipo de producto cereal deseado.

El producto cereal puede contener también una fuente de almidón. Las fuentes adecuadas de proteína pueden seleccionarse entre cualquier fuente de proteínas adecuada animal o vegetal; por ejemplo, harina de carne, harina de huesos, harina de pescado, concentrados de proteína de soja, proteínas de leche, gluten y similares. La elección de la fuente de proteínas se determinará en gran parte por las necesidades nutricionales, consideraciones sobre el sabor, y el tipo de producto cereal producido. Por supuesto, la fuente de almidón puede también ser una fuente de proteína.

El producto cereal puede obtenerse de muchas diferentes maneras según se desee. Sin embargo, una manera especialmente adecuada de producir el producto cereal es por cocción de extrusión. Esta puede hacerse de forma ya bien conocida en la especialidad. Por ejemplo, en un procedimiento adecuado, una mezcla de alimentos se traslada a un aparato preacondicionador. La mezcla de alimentos se completa en primer lugar con la fuente de almidón y otros ingredientes tales como azúcar, sal, especias, condimentos, vitaminas, minerales, agentes saborizantes, agentes colorantes, anti-oxidantes, fuentes de proteína, grasas y similares. Si se desea pueden incluirse también fuentes de fibra insoluble, por ejemplo, salvado de trigo, salvado de maíz, salvado de arroz, salvado de centeno y similares. Además, si se desea, puede incluirse una fuente de fibra soluble, por ejemplo, fibras de achicoria, inulina, fructooligosacáridos, oligosacáridos de soja, concentrado de salvado de avena, goma guar, goma de haba de algarrobo, goma de xanthan y similares. De preferencia, la fibra soluble seleccionada es un sustrato para el microorganismo seleccionado o bien la fibra soluble y el microorganismo forman una relación de simbiosis para promover efectos beneficiosos. El nivel máximo de fibra soluble es de preferencia aproximadamente el 20% en peso; en especial aproximadamente el 10% en peso. Por ejemplo, en la comida para animales domésticos, puede incluirse la achicoria desde aproximadamente un 1% a aproximadamente un 20% en peso de la mezcla de alimentos; con mayor preferencia aproximadamente un 2% a aproximadamente un 10% en peso.

En función de la forma deseada del producto cereal, puede variarse el contenido de almidón de la mezcla de alimentos. Por ejemplo, para un producto cereal expandido, la mezcla de alimentos incluye de preferencia aproximadamente hasta un 40% en peso de almidón. En cambio, para un producto en forma de copos, no es necesario emplear grandes cantidades de almidón en la mezcla de alimentos puesto que es posible flocular un producto no expandido.

En el preacondicionador, se mezcla agua o vapor, o ambos, con la mezcla de alimentos. Se añade la suficiente agua o vapor con la mezcla de alimentos para humedecer la mezcla de alimentos. Si se desea, la temperatura de la mezcla de alimentos puede alcanzar en el preacondicionador aproximadamente 60°C hasta aproximadamente 90°C en peso. En la patente US 4.752.139 se describe un preacondicionador adecuado. No es necesario someter la mezcla de alimentos a un preacondicionamiento pero es ventajoso hacerlo.

Los alimentos humedecidos cuando salen del preacondicionador, se introducen en una extrusionadora.

La extrusionadora puede ser cualquier extrusionadora adecuada de un solo husillo o de husillo doble, de cocción. Extrusionadoras adecuadas pueden adquirirse en Wenger Manufacturing Inc, Clextral SA, Bühler AG y similares. Durante el paso a través de la extrusionadora, los alimentos humedecidos pasan a través del sistema de cocción en el cual son sometidos a un cizallamiento mecánico y se calientan, por ejemplo, hasta una temperatura máxima de aproximadamente 150°C y luego, a una zona de conformado. La presión en la zona de conformado es aproximadamente de 300 kPa a aproximadamente 10 MPa, si se desea. Si se desea, puede introducirse agua o vapor, o ambos, en la zona de cocción. Durante el paso a través de la extrusionadora, la fuente de almidón de los alimentos humedecidos se gelatiniza para proporcionar una matriz de almidón gelatinizado.

Si se desea, puede introducirse en la extrusionadora una pequeña cantidad de un aceite comestible juntamente con los alimentos humedecidos para facilitar el proceso de extrusión o como vehículo para los aditivos solubles en aceite. Puede emplearse cualquier aceite apropiado; por ejemplo aceites vegetales tales como el aceite de girasol, aceite de alazor, aceite de maíz, y similares. Si se emplean aceites, son especialmente preferidos los aceites ricos en monoinsaturados. Los aceites hidrogenados o las grasas son también preferidos. La cantidad de aceite empleado se mantiene de preferencia por debajo de aproximadamente un 1% en peso.

La matriz gelatinizada cuando deja la extrusionadora es forzada a través de una boquilla adecuada; por ejemplo una boquilla como se describe en la solicitud de patente europea 0665051. De la boquilla sale un extrusionado conformado, el cual tiene una forma con una sección transversal correspondiente a la del orificio de la boquilla. Si se desea, para producir un producto cereal con relleno en el centro, la matriz gelatinizada puede extrusionarse con un orificio central. A continuación, se corta el extrusionado conformado, en pedazos empleando cuchillas rotativas a la salida de la boquilla. En función de las condiciones de la extrusionadora y de la composición del extrusionado conformado, éste se expande en una mayor o menor extensión. En el caso de comidas para animales domésticos, tiene lugar normalmente una pequeña o ninguna expansión.

ES 2 164 299 T5

Si hay que producir un producto en flóculos o copos, los trozos deben transferirse a continuación a un aparato de flocular. Los aparatos adecuados son ya bien conocidos y ampliamente empleados en la industria cereal y pueden ser adquiridos por ejemplo, en Bühler AG en Suiza. Si se desea, los pedazos pueden ser parcialmente secados antes de la operación de floculado.

A continuación, los pedazos se secan hasta un contenido en humedad por debajo de aproximadamente un 10% en peso. Esto se efectúa convenientemente en un secador de aire caliente como es convencional. Para cereales para el desayuno, se prefiere que el contenido en humedad sea desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 3%.

Los pedazos destinados a las comidas para animales domésticos pueden estar en forma de pedazos masticables. Los pedazos tienen normalmente una actividad al agua de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,7.

Los pedazos expandidos destinados a alimentos para humanos tienen una textura crujiente, agradable y buenas propiedades organolépticas. Los pedazos floculados tienen también buena textura y propiedades organolépticas. Los pedazos tienen un gusto agradable de cereal tostado. Convenientemente, la densidad de los trozos puede ser menor de aproximadamente 300 g/litro. En este punto, los pedazos expandidos o floculados tienen normalmente una actividad al agua de 0,15 a aproximadamente 0,3.

A continuación, se mezclan los microorganismos probióticos con un sustrato de un vehículo adecuado. El sustrato del vehículo variará en función de si los pedazos están destinados a animales o humanos. Para los alimentos para animales domésticos, los sustratos de vehículos adecuados incluyen grasas animales tales como el sebo, grasas vegetales tales como la grasa de soja hidrogenada digeridos de proteína los cuales están corrientemente empleados como recubrimiento saborizante, y agua. Para alimentos para humanos, los sustratos de vehículos adecuados incluyen líquidos, tales como grasas y soluciones de azúcar, y recubrimientos en partículas tales como recubrimientos saborizantes en partículas. Grasas adecuadas son los aceites vegetales comestibles y grasas; por ejemplo la grasa de soja hidrogenada. Adecuados recubrimientos saborizantes en partículas incluyen los azúcares, polvos de chocolate, leche en polvo, malta en polvo, polvos de bebidas saborizados, y similares. Si se desea, el microorganismo probiótico puede ser encapsulado.

Para aumentar la supervivencia de los microorganismos pueden incorporarse agentes de protección en el sustrato del vehículo. Ejemplos de agentes de protección adecuados son las vitaminas tales como las vitaminas C y E, aminoácidos y sus sales tales como la lisina, glicina, cisteína y glutamato de sodio, azúcares tales como la lactosa, trehalosa, sacarosa, dextrina y maltodextrina, y proteínas tales como las proteínas de la leche y de la soja. Trazas de elementos y minerales pueden también incluirse en el sustrato del vehículo.

La selección del sustrato del vehículo dependerá de factores tales como consideraciones sobre el sabor y la supervivencia del organismo probiótico dado que algunos microorganismos sobreviven mejor en algunos sustratos de vehículos que otros. Por ejemplo, se ha descubierto que el *S. cerevisiae* puede ser ligeramente menos estable en digeridos de proteína que en las grasas. Si se utilizan las grasas en el sustrato del vehículo, el sustrato del vehículo contiene de preferencia antioxidantes para reducir la acción del oxígeno sobre microorganismos sensibles. En cambio, la selección del sustrato óptimo del vehículo, es asunto de un simple tanteo por la persona experta. Si es necesario, el sustrato del vehículo puede calentarse ligeramente para fundirlo o reducir su viscosidad.

Para producir un producto cereal recubierto, puede emplearse cualquier técnica adecuada para el recubrimiento de los pedazos. Por ejemplo, en el caso de un sustrato de un vehículo líquido, la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo pueden pulverizarse sobre los pedazos secos. Esto puede efectuarse de cualquier manera apropiada. Por ejemplo, los pedazos pueden transportarse a un lecho fluidizado sobre el cual se pulveriza la mezcla. Alternativamente, los pedazos pueden transportarse a un aparato recubridor rotativo en el cual se pulveriza la mezcla. Como otra alternativa, los pedazos pueden dejarse caer por una cortina y la mezcla de recubrimiento puede pulverizarse sobre dicha cortina. En el caso de un sustrato de un vehículo en partículas, el microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo pueden mezclarse para formar una mezcla seca. Los componentes sensibles al calor, tales como las vitaminas, aminoácidos, etc., pueden también incluirse en la mezcla seca. La mezcla seca se aglomera a continuación en pedazos secos empleando un agente aglomerante. Un procedimiento adecuado se describe en la patente US 4.777.056. Grasas, aceites y soluciones de azúcar son ejemplos de agentes aglomerantes adecuados. Los sustratos de vehículos en partículas, pueden también espolvorearse sobre el producto cereal.

Para un producto cereal relleno, la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo se introducen dentro del orificio central de cada pedazo. En este caso, el sustrato del vehículo es de preferencia viscoso o es de una sustancia que endurece rápidamente. Las grasas son particularmente adecuadas. Alternativamente el producto cereal y el sustrato del vehículo pueden transportarse a un volteador, y el sustrato del vehículo es aglomerado con el producto cereal empleando un jarabe. En este caso, el producto cereal se recubre y se rellena.

El producto cereal seco, listos-para-comer, contiene de preferencia aproximadamente de 10^4 a aproximadamente 10^{10} células del microorganismo probiótico por gramo del producto cereal seco; de preferencia aproximadamente de 10^6 a aproximadamente 10^8 células del microorganismo probiótico por gramo. El producto cereal seco puede contener aproximadamente de 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo: de preferencia, aproximadamente del 1% a aproximadamente el 6% en peso; por ejemplo aproximadamente del 3% a aproximadamente durante el 6% en peso.

El producto cereal seco puede a continuación procesarse, si se desea. Por ejemplo, si el cereal seco debe emplearse como cereal para desayuno, pueden mezclarse o aglomerarse en seco, frutos secos, nueces, otros cereales, productos de leche seca (tales como yogourt seco), con el cereal recubierto. Si se desea, el cereal seco puede ser posteriormente recubierto con agentes protectores o agentes saborizantes, o ambos. Esto puede también efectuarse antes o durante el recubrimiento o rellenado de los pedazos secos con la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo.

También es posible producir un producto cereal seco mezclando juntos, agua y los ingredientes del producto cereal; por ejemplo en un aparato preacondicionador. La mezcla húmeda puede a continuación conformarse en una forma deseada; por ejemplo, empleando cilindros de dar forma. La mezcla conformada puede a continuación, ser cocida en un horno; por ejemplo de aproximadamente 220°C a aproximadamente 280°C durante aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 1 hora. El producto de cereal seco tiene la apariencia de una galleta cocida al horno. El recubrimiento o relleno puede aplicarse a continuación como se ha descrito más arriba.

Alternativamente, el producto cereal puede formularse en alimentos de fácil y rápida preparación, tales como barras para bocadillos y similares. De nuevo el producto cereal puede mezclarse con nueces, frutos secos, azúcares u otros edulcorantes, agentes colorantes o agentes saborizantes, y similares. Puede añadirse a continuación, un aglomerante adecuado, por ejemplo goma arábica o gelatina. Puede también incluirse un agente que reduce la facilidad a la rotura de la barra; por ejemplo trigo hidrolizado. Si se desea, puede recubrirse la barra con un recubrimiento adecuado; por ejemplo, chocolate. Los procedimientos para la elaboración de barras para bocadillos son ya bien conocidos y están descritas en la especialidad; ver por ejemplo la patente US 4.871.557.

Se apreciará que el producto cereal seco, listo-para-comer, puede obtenerse por cualquier procedimiento adecuado y no solamente por el que se ha descrito más arriba.

En el caso de los alimentos humanos, el producto cereal seco, listo-para-comer, contiene de preferencia un suplemento nutricional. En el caso de alimentos para animales domésticos, el producto cereal listo-para-comer, seco, puede darse a animales domésticos como única fuente de nutrición o puede ser suplementado mediante otras fuentes de nutrición; por ejemplo alimentos en lata. Cuando se consume en cantidades adecuadas, el producto cereal seco, listo-para-comer, da como resultado la producción de ácidos tales como el ácido láctico o ácido acético en el intestino del humano o del animal. Esto inhibe el crecimiento de bacterias patógenas tales como el *Clostridium perfringens* u otras que afectan adversamente al bienestar, y tiene por lo tanto un efecto beneficioso sobre el humano o animal. También, los microorganismos probióticos se adhieren a las superficies intestinales y compiten con las bacterias indeseables. Además, puede inhibirse el crecimiento y actividad de las bacterias putrefactas y por lo tanto la producción de compuestos de amino tóxicos. Cantidades adecuadas del producto cereal listo-para-comer, seco, pueden dar también como resultado, la activación de la función inmunológica del humano o animal.

La cantidad de producto cereal, listo-para-comer, seco, que debe consumir el humano o animal para obtener un efecto beneficioso, dependerá del tamaño y edad del humano o animal. Sin embargo, sería normalmente adecuada una cantidad del producto cereal listo-para-comer, seco, que proporcionará una cantidad diaria de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{12} células del microorganismo probiótico.

Pueden hacerse numerosas modificaciones a las versiones descritas más arriba. Por ejemplo, no es necesario producir el producto cereal por cocción en la extrusión. En su lugar, el producto cereal puede producirse por cualquier método adecuado para producir pedazos de cereal listos-para-comer, seco. Por ejemplo, los materiales alimenticios pueden cocerse en el horno con agua para proporcionar una pasta conocida. A continuación, la pasta se seca en un rodillo para producir copos secos; normalmente de un grueso de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 1 mm.

Se describen ahora varios ejemplos específicos para una posterior ilustración.

Ejemplo 1

Se prepara una mezcla de alimentos a base de maíz, gluten de maíz, harina de pollo y pescado, sales, vitaminas y minerales. La mezcla de alimentos se introduce en un preacondicionador y se humedece. Los alimentos humedecidos que abandonan el preacondicionador se introducen a continuación en una extrusionadora de cocción y se gelatinizan. La matriz gelatinizada que deja la extrusionadora se fuerza a través de una boquilla y se extrusiona. El extrusionado que abandona la boquilla se corta en trozos adecuados para la alimentación a perros se seca a aproximadamente 110°C durante aproximadamente 20 minutos, y se enfría para formar píldoras. La actividad al agua de las píldoras es aproximadamente 0,6.

Las píldoras se pulverizan con tres mezclas diferentes de recubrimiento. Cada mezcla de recubrimiento contiene *Bacillus coagulans*, pero una mezcla de recubrimiento emplea grasa de soja hidrogenada como sustrato de recubrimiento, mientras que otra mezcla de recubrimiento emplea agua como sustrato de recubrimiento, y la restante mezcla de recubrimiento emplea un digerido de proteína como sustrato de recubrimiento. El *B. coagulans* está en forma de endosporas pulverulentas y puede adquirirse en Sankyo Pharmaceutical Company con el nombre registrado de Lacris-S. Las píldoras contienen aproximadamente $1,6 \times 10^6$ células/g de *B. Coagulans*. Para cada mezcla de recubrimiento las píldoras se separan en dos grupos. Un grupo se almacena aproximadamente a 25°C y, para evaluar la estabilidad a largo plazo del microorganismo, el otro grupo se almacena aproximadamente a 37°C. Se toma una muestra de cada grupo después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas y 4 semanas. También se toma una muestra recubierta de grasa del grupo que se almacena a 37°C, a las 8 semanas.

ES 2 164 299 T5

Se determinan los contejos de células para cada muestra. Los resultados se registran en la figura 1. En todos los casos, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes, lo cual indica una excelente estabilidad al almacenaje. Además, el resultado del almacenamiento a 37°C durante 8 semanas indica que los microorganismos son probablemente estables después de un año de almacenamiento en condiciones normales.

Ejemplo 2

Se repite el ejemplo 1, excepto que las tres diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una una *Bacillus subtilis* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *B. Subtilis* está en forma de endoesporas en polvo y puede obtenerse de Hansen A/S con el nombre registrado de BioPlus 2B. Los resultados están indicados en la figura 2.

En todos los casos, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes, lo cual indica una excelente estabilidad al almacenamiento. Sin embargo, los contejos de células para las píldoras recubiertas con grasa son un poco inferiores a las del agua y digerido de proteína aunque todavía son sustancialmente constantes. De nuevo, los resultados del almacenamiento a 37°C durante 8 semanas indican que los microorganismos son probablemente estables después de un año de almacenamiento en condiciones normales.

Ejemplo 3

Se repite el ejemplo 1, excepto que las tres últimas diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una el *Pediacoccus acidilactici* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *P. acidilactici* está en forma de un polvo seco y puede adquirirse en Lallmand SA con el nombre registrado de Bactocell. Los resultados del almacenamiento son como sigue:

Semanas	Grasa 25°C	Grasa 37°C	Agua 25°C	Agua 37°C	Digerido 25°C	Digerido 37°C
0	19,6x10 ⁶	19,6x10 ⁶	21,9x10 ⁶	21,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶
1	13,6x10 ⁶	13,6x10 ⁶	14,7x10 ⁶	14,7x10 ⁶	12,1x10 ⁶	2,93x10 ⁶
2	12,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶	13,1x10 ⁶	13,1x10 ⁶	---	---
3	9,73x10 ⁶	6,69x10 ⁶	16,0x10 ⁶	6,07x10 ⁶	7,77x10 ⁶	0,76x10 ⁶
4	12,9x10 ⁶	4,6x10 ⁶	14,0x10 ⁶	5,31x10 ⁶	---	---
5	---	---	---	---	5,1x10 ⁶	0,68x10 ⁶
8	6,8x10 ⁶	1,5x10 ⁶	---	---	---	---

Para las píldoras recubiertas empleando agua o grasas, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes a aproximadamente 10⁷ cfu/g; indicando una excelente estabilidad. Para las píldoras recubiertas empleando un digerido de proteína, cuando se almacenan a 37°C, los contejos de células disminuyeron inicialmente pero a continuación se estabilizaron a aproximadamente 10⁶ cfu/g; lo cual es adecuado.

Ejemplo 4

Se repite el ejemplo 1 excepto que las tres diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una el *Saccharomyces cerevisiae* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *S. cerevisiae* está en forma de un polvo seco y puede adquirirse en Santel S.A. con el nombre registrado de Levucell. Los resultados del almacenamiento fueron los siguientes:

Semanas	Grasa 25°C	Grasa 37°C	Agua 25°C	Agua 37°C	Digerido 25°C	Digerido 37°C
0	28,0x10 ⁶	28,0x10 ⁶	27,6x10 ⁶	27,6x10 ⁶	11,3x10 ⁶	11,3x10 ⁶
1	23,2x10 ⁶	23,3x10 ⁶	17,2x10 ⁶	17,2x10 ⁶	7,53x10 ⁶	1,83x10 ⁶
2	24,5x10 ⁶	24,5x10 ⁶	18,7x10 ⁶	18,7x10 ⁶	---	---
3	24,5x10 ⁶	9,93x10 ⁶	13,5x10 ⁶	4,40x10 ⁶	1,99x10 ⁶	0,16x10 ⁶
4	13,7x10 ⁶	15,9x10 ⁶	---	---	---	---
5	---	---	---	---	2,42x10 ⁶	0,03x10 ⁶
8	17,5x10 ⁶	12,3x10 ⁶	---	---	---	---

Para las píldoras recubiertas empleando agua o grasas, los contajes de células permanecieron sustancialmente constantes a aproximadamente 10^7 cfu/g; indicando una excelente estabilidad al almacenamiento. Este es particularmente el caso de las píldoras recubiertas con grasas. Sin embargo, los contajes de células para las píldoras recubiertas con digerido de proteína son un poco inferiores que los del agua y grasa, pero son todavía aceptables cuando se almacenan a 25°C. Cuando se almacenan a 37°C, los contajes de células para las píldoras recubiertas con digerido de proteína, disminuyen.

Ejemplo 5

Se efectuó una prueba empleando 30 perros. Los perros se alimentaron con una dieta seca estándar durante una semana antes del principio de los ensayos. Inmediatamente antes del comienzo de los ensayos, se determinó la flora del intestino y una medida de los olores fecales para cada perro.

A continuación, se separaron los perros en dos grupos de 15 perros. Un grupo de perros se alimentó con píldoras recubiertas de grasa, secas, del ejemplo 1. El otro grupo de perros se alimentó con las mismas píldoras pero sin el recubrimiento de grasa y el microorganismo probiótico. Los perros tuvieron libre acceso a la comida y al agua.

Después de una semana, se analizó la flora intestinal de cada perro. Los perros que se alimentaron con las píldoras del ejemplo 1 tenían los contajes del *C. Perfringens* disminuidos. Además, el pH fecal y los olores se encontraron disminuidos en los perros que se alimentaron con las píldoras del ejemplo 1.

Ejemplo 6

Se prepara una mezcla de alimentos del 70% en peso de harina de maíz, 17% en peso de harina de trigo, 7% en peso de azúcar, 3% en peso de malta, 2% en peso de grasas vegetales, y sal. La mezcla de alimentos se introduce en un aparato preacondicionador y se humedece. El alimento humedecido que abandona el preacondicionador se introduce a continuación en una extrusora y se gelatiniza. La matriz gelatinizada que abandona la extrusora es forzada a través de una boquilla y se extrusiona. El extrusado se expande después de abandonar la cabeza de la boquilla y se corta en pedazos de aproximadamente 1 cm. A continuación los pedazos se secan hasta un contenido de humedad de alrededor del 1% en peso.

Los pedazos se pulverizan con dos diferentes mezclas de recubrimiento. Cada mezcla de recubrimiento contiene aceite de girasol como sustrato del vehículo pero un diferente microorganismo. Los microorganismos son:

Microorganismo	Fuente	Forma
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Santel SA (Levucell™)	Polvo seco por Pulverización
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	Bioferment Division of Cerbios Pharma SA (LBC-K™), Suiza	Polvo seco por pulverización

Ambos microorganismos están comercialmente disponibles. Todos los pedazos contienen aproximadamente 10^6 células/g a 10^7 células/g del microorganismo probiótico. Para obtener una idea de la estabilidad del microorganismo a largo plazo, los pedazos se almacenaron a aproximadamente 37°C. Se tomó una muestra de cada grupo inmediatamente después de la producción, después de 1 semana y después de 3 semanas.

ES 2 164 299 T5

Se determinaron los contajes de células viales para cada muestra. Los resultados son como sigue:

Microorganismo	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$6,40 \times 10^6$	$2,21 \times 10^6$	$3,90 \times 10^6$
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	$1,38 \times 10^6$	$8,60 \times 10^6$	$4,03 \times 10^6$

Los resultados indican que los microorganismos probióticos permanecen sustancialmente estables.

Ejemplo 7

Se repitió el procedimiento del ejemplo 6, excepto que la mezcla de recubrimiento es una mezcla seca de los microorganismos probióticos y polvo con sabor de chocolate (polvo de Nesquik®). La mezcla seca se recubre sobre los pedazos empleando el procedimiento descrito en la patente US 4.777.056 y empleando un aceite vegetal como agente aglomerante.

Además, se emplearon los siguientes microorganismos:

Microorganismo	Fuente	Forma
<i>B. coagulans</i>	Sankyo Pharmaceutical Company (Lacris-S™) Japón	Endoesporas en polvo
<i>J. johnsonii</i> La1	Nestec SA	Polvo seco por liofilización
<i>Bifidobacterium animalis/longum</i>	Ch. Hansen A/S (Bb12™), Dinamarca	Polvo seco por liofilización
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Santel SA (Levucell™)	Polvo seco por pulverización
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	Bioferment División of Cerbios Pharma SA (LBC-K™), Suiza	Polvo seco por pulverización

El primero, tercero, cuarto y quinto microorganismos están comercialmente disponibles. El segundo microorganismo está descrito en la patente EP 0577904 y fue depositado en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes ("Colección nacional de cultivos de microorganismos") (CNCM), Instituto Pasteur, 28 calle del Dr. Roux, 757724 Paris Cedex 15, Francia el 30 de junio de 1992, bajo el número CNCM I-1225 y el nombre La 1 por la Société de Produits Nestlé, S.A.

ES 2 164 299 T5

Se determinaron los contajes de células para cada muestra. Los resultados fueron como sigue:

Microorganismo	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
<i>B. coagulans</i>	$6,37 \times 10^6$	$5,07 \times 10^6$	$4,24 \times 10^6$
<i>L. johnsonii</i> <i>La1</i>	$1,43 \times 10^6$	$3,21 \times 10^5$	$1,39 \times 10^5$
<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>/longum</i>	$8,06 \times 10^6$	$2,95 \times 10^6$	$9,80 \times 10^5$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$2,43 \times 10^5$	$2,17 \times 10^5$	$1,38 \times 10^5$
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	$1,45 \times 10^6$	$5,70 \times 10^5$	$1,50 \times 10^4$

Los resultados indican que el *B. coagulans* y el *Bifidobacterium animalis/longum* permanecerán probablemente estables durante largos períodos. Los otros microorganismos muestran una inferior pero aceptable estabilidad.

Ejemplo 8

Productos cereales expandidos, producidos como se ha descrito en el ejemplo 6, se recubren con tres sustratos de recubrimiento. El producto 1 se prepara recubriendo el producto cereal con aceite vegetal y a continuación se espolvorea sobre un polvo de leche secada por pulverización el cual contiene *L. johnsonii* La1, el producto 2 se prepara recubriendo el producto cereal con aceite vegetal y a continuación se espolvorea sobre una mezcla de polvo de leche secada por pulverización la cual contiene *L. johnsonii* La1 y un polvo conteniendo cacao (polvo de Nesquik®); el producto 3 se prepara suspendiendo un polvo de leche secada por pulverización que contiene *L. johnsonii* La1 en un aceite vegetal y pulverizando el aceite (sin presión) sobre el producto cereal.

Se determinó el contaje de células para cada producto. Los resultados fueron los siguientes:

Producto	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
1	$3,86 \times 10^7$	$4,42 \times 10^7$	$3,00 \times 10^7$
2	$1,59 \times 10^7$	$2,30 \times 10^7$	$1,65 \times 10^7$
3	$3,51 \times 10^7$	$4,61 \times 10^6$	$3,36 \times 10^6$

Los resultados indican que los microorganismos probióticos permanecen sustancialmente estables.

Ejemplo 9

Se efectúa un ensayo empleando 20 voluntarios adultos. Inmediatamente antes del comienzo de las pruebas, se determina la flora intestinal de cada voluntario. A continuación se separan los voluntarios en dos grupos de 10 personas. Un grupo es alimentado, para el desayuno, con una porción de 30 g del producto 1 del ejemplo 8 junto con leche fría. El otro grupo es alimentado con el mismo producto cereal pero sin el recubrimiento de grasa y microorganismo probiótico. El resto de las comidas durante el día son las comidas normales ingeridas por los voluntarios.

Después de una semana, se analiza la flora intestinal de cada voluntario. Los voluntarios que han sido alimentados con el Producto 1 han disminuido los contajes de *C. perfringens*.

Descripción para los siguientes estados contractuales: AT, SE

Campo de la invención

Esta invención se refiere a un producto cereal listo-para-comer, que contiene un microorganismo probiótico, por ejemplo, alimentos para animales domésticos, cereales para desayuno, cereales para niños o alimentos de preparación rápida y sencilla. En la práctica el producto cereal tiene un efecto benéfico en el tracto intestinal de la persona o animal que lo consume, y por lo tanto para la persona o animal. La invención se refiere también a un procedimiento para producir el producto cereal, y a los métodos para promover efectos beneficiosos en los tractos gastrointestinales de humanos y animales.

Antecedentes de la invención

Los microorganismos probióticos son microorganismos que afectan beneficiosamente al anfitrión mejorando su equilibrio microbiano intestinal (Fuller, R.; 1989; *J. Applied Bacteriology*, 66: 365-378). En general, los microorganismos probióticos producen ácidos orgánicos tales como el ácido láctico y ácido acético los cuales inhiben el crecimiento de bacterias patógenas tales como el *Clostridium perfringens* y *Helicobacter pylori*. Por consiguiente, las bacterias probióticas se cree que son de utilidad en el tratamiento y prevención de las condiciones causadas por las bacterias patógenas. Además, los microorganismos probióticos se cree que inhiben el crecimiento y actividad de las bacterias de la putrefacción y por lo tanto la producción de compuestos de amina tóxicos. También se cree que las bacterias probióticas activan la función inmunológica del anfitrión.

Por lo tanto, existe un considerable interés en incluir microorganismos probióticos en los productos alimenticios. Por ejemplo, muchos productos con leche fermentada que contienen microorganismos probióticos están disponibles comercialmente. Habitualmente estos productos están en forma de yogourts, y un ejemplo es el yogourt LCI® (Société des Produits Nestlé, S.A.). Muchas fórmulas para niños y de suplementos que contienen microorganismos probióticos se encuentran también comercialmente disponibles; por ejemplo, la fórmula BIO NAN® (Société des Produits Nestlé, S.A.).

De forma similar, para los animales, ha habido interés en incluir microorganismos probióticos en los alimentos para animales. Por ejemplo, la patente rusa 2018313 describe un alimento animal en polvo, secado por pulverización, el cual se basa sobre la leche y el cual contiene ciertas bifidobacterias y estreptococos. Este pienso animal está pensado principalmente para el ganado, aunque se menciona que dicho pienso puede darse también a los animales domésticos.

Sin embargo, hay dos cuestiones principales en la incorporación de microorganismos probióticos en los productos alimenticios. En primer lugar, el producto alimenticio debe estar en una forma que sea sabroso para el consumidor. En segundo lugar, los microorganismos probióticos deben permanecer viables durante el almacenamiento. La segunda cuestión es particularmente problemática para los productos cereales listos-para-comer. Estos productos cereales, a diferencia de las leches fermentadas, necesitan tener una vida larga al almacenamiento; por ejemplo, por lo menos un año, mientras que el conteo de células para muchos microorganismos probióticos, puede disminuir completamente en uno o dos días. Este es particularmente el caso cuando la actividad al agua de los productos alimenticios está por encima de aproximadamente 0,5. Este es normalmente el caso para la comida seca para animales domésticos.

La patente US n° 4.943.437 de Kvant describe una técnica para el mezclado de un material biológicamente activo con una base de un producto alimenticio, de tal manera que el primero es homogéneamente dispersado en el último y es evidente como recubrimiento de la superficie a baja concentración. El material biológicamente activo se dispersa en primer lugar uniformemente en un vehículo hidrofóbico tal como un aceite adecuado, antes del mezclado. No describe cómo proporcionar un producto listo-para-comer en el que está incluido un probiótico.

Por lo tanto, existe la necesidad de un producto cereal listo-para-comer, que contenga un microorganismo probiótico, que sea altamente sabroso y que sea estable al almacenamiento.

Resumen de la invención

En consecuencia, en un aspecto, esta invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, que contiene una matriz de almidón gelatinizado, el cual incluye un relleno que contiene un microorganismo probiótico, el cual relleno comprende un sustrato de soporte. De acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, el cual comprende una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento que contiene un microorganismo probiótico, estando la matriz de almidón pregelatinizado en forma expandida, el cual recubrimiento comprende un sustrato de soporte, el cual contiene el microorganismo, en donde el producto contiene 0,5-20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato de soporte.

Se ha descubierto que los organismos probióticos permanecen viables durante extensos períodos de tiempo cuando están formulados dentro de un recubrimiento o un relleno en un producto cereal seco. Esto es sorprendente dado que los microorganismos probióticos mueren de ordinario muy rápidamente. Este es particularmente el caso de los alimentos cocidos y secos para animales domésticos, que generalmente tienen una actividad al agua por encima de aproximadamente 0,5; niveles a los cuales los microorganismos probióticos mueren ordinariamente con rapidez. Por lo tanto, la invención tiene la ventaja de un producto cereal listo-para-comer el cual es altamente sabroso y el cual contiene una fuente de microorganismos probióticos, estable al almacenamiento.

El producto cereal puede estar en forma de un alimento seco para animales domésticos, un cereal para desayuno, un cereal para niños, o un alimento de preparación rápida y sencilla, tal como una barra de cereales. Para alimentos humanos, la matriz de almidón gelatinizado es preferible en forma de copos o en forma expandida. Para alimentos para animales domésticos, la matriz de almidón gelatinizado es preferible en forma de pedazos o píldoras. La matriz gelatinizada se obtiene de preferencia por extrusión cociendo una fuente de almidón.

De preferencia, el recubrimiento comprende un sustrato de un vehículo que introduce el microorganismo probiótico en el propio recubrimiento. El relleno puede también comprender un sustrato de un vehículo que introduce el microorganismo probiótico en el propio relleno. Por ejemplo el sustrato del vehículo puede ser digerido de proteína, grasa, sólidos de la leche, azúcar o un agente saborizante en partículas.

En otro aspecto, esta invención proporciona un procedimiento para la preparación de un producto cereal seco, listo-para-comer, comprendiendo este procedimiento el cocido de una fuente de almidón para formar una matriz de almidón gelatinizado; conformando la matriz de almidón gelatinizado en pedazos y secando estos pedazos; y recubriendo o llenando los pedazos con un sustrato que contiene microorganismos probióticos.

En una versión, la matriz de almidón gelatinizado se conforma en pedazos y se secan por extrusión de la matriz gelatinizada para formar un extrusionado cocido y cortando y secando el extrusionado cocido para formar pedazos secos. La matriz gelatinizada puede obtenerse para expandir después de la extrusión para formar pedazos expandidos, después de cortar y secar. Alternativamente, los pedazos pueden someterse al floculado para formar pedazos floculados.

En otra versión, la matriz de almidón gelatinizado puede estar conformada en pedazos, secando mediante un secado en cilindros esta matriz de almidón gelatinizado para formar copos.

En otra versión, la matriz de almidón gelatinizado puede estar conformada en pedazos, secando por extrusión la matriz gelatinizada para formar un extrusionado cocido que contiene una abertura; y cortando y secando los pedazos. De preferencia, la matriz de almidón gelatinizado se extrusiona con un orificio central para recibir un relleno.

Breve descripción de los dibujos

Se describen ahora, varias versiones de la invención, solamente a vía de ejemplos, con referencia a los dibujos, en los cuales:

La figura 1 es un gráfico que ilustra la viabilidad del *Bacillus coagulans* en varios recubrimientos sobre un alimento para animales domésticos, seco, cocido; y

La figura 2 es un gráfico que ilustra la viabilidad del *Bacillus subtilis* en varios recubrimientos sobre un alimento para animales domésticos, seco, cocido.

Descripción detallada de las versiones preferidas de la invención

Se describen ahora varias versiones de la invención, solamente a vía de ejemplo. La invención proporciona un producto cereal seco, listo-para-comer, en forma de una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento o un relleno. El recubrimiento o relleno contiene un microorganismo probiótico. El microorganismo probiótico puede seleccionarse entre uno o más microorganismos adecuados para el consumo humano o animal y el cual es capaz de mejorar el equilibrio microbiano en el intestino humano o animal.

Ejemplos de microorganismos probióticos adecuados incluyen levaduras tales como *Saccharomyces*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia* y *Torulopsis*, hongos como *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Penicillium* y bacterias tales como los géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus* y *Lactobacillus*. Ejemplos específicos de microorganismos probióticos adecuados son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus casei subsp. casei*, *Lactobacillus casei Shirota*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*, *Lactobacillus farciminus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* (*Lactobacillus* GG), *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus lactis*, *Micrococcus varians*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus halophilus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus*, *Staphylococcus carnosus*, y *Staphylococcus xylosus*. Los microorganismos probióticos están de preferencia en forma de polvo seco, especialmente en forma de esporas para los microorganismos que forman esporas. Además, si se desea, los microorganismos probióticos pueden estar encapsulados para aumentar más la probabilidad de supervivencia; por ejemplo, en una matriz de azúcar, una matriz de grasa o una matriz de un polisacárido.

El producto cereal seco, listo-para-comer, puede obtenerse a partir de cualesquiera ingredientes adecuados, tales como los empleados habitualmente en los productos cereales secos, listos-para-comer. Uno de estos ingredientes es una fuente de almidón. Fuentes adecuadas de almidón son, por ejemplos, las harinas de cereales, tales como maíz, arroz, trigo, remolacha, cebada, soja y avena. También pueden emplearse mezclas de estas harinas. Las harinas pueden ser harinas completas o pueden ser harinas de las que se han eliminado ciertas fracciones; por ejemplo, puede eliminarse la

fracción del germen o la fracción de la cáscara. La harina de arroz, harina de maíz y harina de trigo son particularmente adecuadas, bien solas o bien en combinación. La fuente de almidón será escogida con rigor sobre la base de su valor nutricional, consideraciones sobre su sabor, y el tipo de producto cereal deseado.

El producto cereal puede contener también una fuente de almidón. Las fuentes adecuadas de proteína pueden seleccionarse entre cualquier fuente de proteínas adecuada animal o vegetal; por ejemplo, harina de carne, harina de huesos, harina de pescado, concentrados de proteína de soja, proteínas de leche, gluten y similares. La elección de la fuente de proteínas se determinará en gran parte por las necesidades nutricionales, consideraciones sobre el sabor, y el tipo de producto cereal producido. Por supuesto, la fuente de almidón puede también ser una fuente de proteína.

El producto cereal puede obtenerse de muchas diferentes maneras según se desee. Sin embargo, una manera especialmente adecuada de producir el producto cereal es por cocción de extrusión. Esta puede hacerse de forma ya bien conocida en la especialidad. Por ejemplo, en un procedimiento adecuado, una mezcla de alimentos se traslada a un aparato preacondicionador. La mezcla de alimentos se completa en primer lugar con la fuente de almidón y otros ingredientes tales como azúcar, sal, especias, condimentos, vitaminas, minerales, agentes saborizantes, agentes colorantes, antioxidantes, fuentes de proteína, grasas y similares. Si se desea pueden incluirse también fuentes de fibra insoluble, por ejemplo, salvado de trigo, salvado de maíz, salvado de arroz, salvado de centeno y similares. Además, si se desea, puede incluirse una fuente de fibra soluble, por ejemplo, fibras de achicoria, inulina, fructooligosacáridos, oligosacáridos de soja, concentrado de salvado de avena, goma guar, goma de haba de algarrobo, goma de xantham y similares. De preferencia, la fibra soluble seleccionada es un sustrato para el microorganismo seleccionado o bien la fibra soluble y el microorganismo forman una relación de simbiosis para promover efectos beneficiosos. El nivel máximo de fibra soluble es de preferencia aproximadamente el 20% en peso; en especial aproximadamente el 10% en peso. Por ejemplo, en la comida para animales domésticos, puede incluirse la achicoria desde aproximadamente un 1% a aproximadamente un 20% en peso de la mezcla de alimentos; con mayor preferencia aproximadamente un 2% a aproximadamente un 10% en peso.

En función de la forma deseada del producto cereal, puede variarse el contenido de almidón de la mezcla de alimentos. Por ejemplo, para un producto cereal expandido, la mezcla de alimentos incluye de preferencia aproximadamente hasta un 40% en peso de almidón. En cambio, para un producto en forma de copos, no es necesario emplear grandes cantidades de almidón en la mezcla de alimentos puesto que es posible flocular un producto no expandido.

En el preacondicionador, se mezcla agua o vapor, o ambos, con la mezcla de alimentos. Se añade la suficiente agua o vapor con la mezcla de alimentos para humedecer la mezcla de alimentos. Si se desea, la temperatura de la mezcla de alimentos puede alcanzar en el preacondicionador aproximadamente 60°C hasta aproximadamente 90°C en peso. En la patente US 4.752.139 se describe un preacondicionador adecuado. No es necesario someter la mezcla de alimentos a un preacondicionamiento pero es ventajoso hacerlo.

Los alimentos humedecidos cuando salen del preacondicionador, se introducen en una extrusionadora.

La extrusionadora puede ser cualquier extrusionadora adecuada de un solo husillo o de husillo doble, de cocción. Extrusionadoras adecuadas pueden adquirirse en Wenger Manufacturing Inc, Cletral SA, Bühler AG y similares. Durante el paso a través de la extrusionadora, los alimentos humedecidos pasan a través del sistema de cocción en el cual son sometidos a un cizallamiento mecánico y se calientan, por ejemplo, hasta una temperatura máxima de aproximadamente 150°C y luego, a una zona de conformado. La presión en la zona de conformado es aproximadamente de 300 kPa a aproximadamente 10 MPa, si se desea. Si se desea, puede introducirse agua o vapor, o ambos, en la zona de cocción. Durante el paso a través de la extrusionadora, la fuente de almidón de los alimentos humedecidos se gelatiniza para proporcionar una matriz de almidón gelatinizado.

Si se desea, puede introducirse en la extrusionadora una pequeña cantidad de un aceite comestible juntamente con los alimentos humedecidos para facilitar el proceso de extrusión o como vehículo para los aditivos solubles en aceite. Puede emplearse cualquier aceite apropiado; por ejemplo aceites vegetales tales como el aceite de girasol, aceite de alazor, aceite de maíz, y similares. Si se emplean aceites, son especialmente preferidos los aceites ricos en monoinsaturados. Los aceites hidrogenados o las grasas son también preferidos. La cantidad de aceite empleado se mantiene de preferencia por debajo de aproximadamente un 1% en peso.

La matriz gelatinizada cuando deja la extrusionadora es forzada a través de una boquilla adecuada; por ejemplo una boquilla como se describe en la solicitud de patente europea 0665051. De la boquilla sale un extrusionado conformado, el cual tiene una forma con una sección transversal correspondiente a la del orificio de la boquilla. Si se desea, para producir un producto cereal con relleno en el centro, la matriz gelatinizada puede extrusionarse con un orificio central. A continuación, se corta el extrusionado conformado, en pedazos empleando cuchillas rotativas a la salida de la boquilla. En función de las condiciones de la extrusionadora y de la composición del extrusionado conformado, éste se expande en una mayor o menor extensión. En el caso de comidas para animales domésticos, tiene lugar normalmente una pequeña o ninguna expansión.

Si hay que producir un producto en flóculos o copos, los trozos deben transferirse a continuación a un aparato de flocular. Los aparatos adecuados son ya bien conocidos y ampliamente empleados en la industria cereal y pueden ser adquiridos por ejemplo, en Bühler AG en Suiza. Si se desea, los pedazos pueden ser parcialmente secados antes de la operación de floculado.

A continuación, los pedazos se secan hasta un contenido en humedad por debajo de aproximadamente un 10% en peso. Esto se efectúa convenientemente en un secador de aire caliente como es convencional. Para cereales para el desayuno, se prefiere que el contenido en humedad sea desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 3%.

Los pedazos destinados a las comidas para animales domésticos pueden estar en forma de pedazos masticables. Los pedazos tienen normalmente una actividad al agua de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,7.

Los pedazos expandidos destinados a alimentos para humanos tienen una textura crujiente, agradable y buenas propiedades organolépticas. Los pedazos floculados tienen también buena textura y propiedades organolépticas. Los pedazos tienen un gusto agradable de cereal tostado. Convenientemente, la densidad de los trozos puede ser menor de aproximadamente 300 g/litro. En este punto, los pedazos expandidos o floculados tienen normalmente una actividad al agua de 0,15 a aproximadamente 0,3.

A continuación, se mezclan los microorganismos probióticos con un sustrato de un vehículo adecuado. El sustrato del vehículo variará en función de si los pedazos están destinados a animales o humanos. Para los alimentos para animales domésticos, los sustratos de vehículos adecuados incluyen grasas animales tales como el sebo, grasas vegetales tales como la grasa de soja hidrogenada digeridos de proteína los cuales están corrientemente empleados como recubrimiento saborizante, y agua. Para alimentos para humanos, los sustratos de vehículos adecuados incluyen líquidos, tales como grasas y soluciones de azúcar, y recubrimientos en partículas tales como recubrimientos saborizantes en partículas. Grasas adecuadas son los aceites vegetales comestibles y grasas; por ejemplo la grasa de soja hidrogenada. Adecuados recubrimientos saborizantes en partículas incluyen los azúcares, polvos de chocolate, leche en polvo, malta en polvo, polvos de bebidas saborizados, y similares. Si se desea, el microorganismo probiótico puede ser encapsulado.

Para aumentar la supervivencia de los microorganismos pueden incorporarse agentes de protección en el sustrato del vehículo. Ejemplos de agentes de protección adecuados son las vitaminas tales como las vitaminas C y E, aminoácidos y sus sales tales como la lisina, glicina, cisteína y glutamato de sodio, azúcares tales como la lactosa, trehalosa, sacarosa, dextrina y maltodextrina, y proteínas tales como las proteínas de la leche y de la soja. Trazas de elementos y minerales pueden también incluirse en el sustrato del vehículo.

La selección del sustrato del vehículo dependerá de factores tales como consideraciones sobre el sabor y la supervivencia del organismo probiótico dado que algunos microorganismos sobreviven mejor en algunos sustratos de vehículos que otros. Por ejemplo, se ha descubierto que el *S. cerevisiae* puede ser ligeramente menos estable en digeridos de proteína que en las grasas. Si se utilizan las grasas en el sustrato del vehículo, el sustrato del vehículo contiene de preferencia antioxidantes para reducir la acción del oxígeno sobre microorganismos sensibles. En cambio, la selección del sustrato óptimo del vehículo, es asunto de un simple tanteo por la persona experta. Si es necesario, el sustrato del vehículo puede calentarse ligeramente para fundirlo o reducir su viscosidad.

Para producir un producto cereal recubierto, puede emplearse cualquier técnica adecuada para el recubrimiento de los pedazos. Por ejemplo, en el caso de un sustrato de un vehículo líquido, la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo pueden pulverizarse sobre los pedazos secos. Esto puede efectuarse de cualquier manera apropiada. Por ejemplo, los pedazos pueden transportarse a un lecho fluidizado sobre el cual se pulveriza la mezcla. Alternativamente, los pedazos pueden transportarse a un aparato recubridor rotativo en el cual se pulveriza la mezcla. Como otra alternativa, los pedazos pueden dejarse caer por una cortina y la mezcla de recubrimiento puede pulverizarse sobre dicha cortina. En el caso de un sustrato de un vehículo en partículas, el microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo pueden mezclarse para formar una mezcla seca. Los componentes sensibles al calor, tales como las vitaminas, aminoácidos, etc., pueden también incluirse en la mezcla seca. La mezcla seca se aglomera a continuación en pedazos secos empleando un agente aglomerante. Un procedimiento adecuado se describe en la patente US 4.777.056. Grasas, aceites y soluciones de azúcar son ejemplos de agentes aglomerantes adecuados. Los sustratos de vehículos en partículas, pueden también espolvorearse sobre el producto cereal.

Para un producto cereal relleno, la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo se introducen dentro del orificio central de cada pedazo. En este caso, el sustrato del vehículo es de preferencia viscoso o es de una sustancia que endurece rápidamente. Las grasas son particularmente adecuadas. Alternativamente el producto cereal y el sustrato del vehículo pueden transportarse a un volteador, y el sustrato del vehículo es aglomerado con el producto cereal empleando un jarabe. En este caso, el producto cereal se recubre y se rellena.

El producto cereal seco, listos-para-comer, contiene de preferencia aproximadamente de 10^4 a aproximadamente 10^{10} células del microorganismo probiótico por gramo del producto cereal seco; de preferencia aproximadamente de 10^6 a aproximadamente 10^8 células del microorganismo probiótico por gramo. El producto cereal seco puede contener aproximadamente de 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo: de preferencia, aproximadamente del 1% a aproximadamente el 6% en peso; por ejemplo aproximadamente del 3% a aproximadamente durante el 6% en peso.

El producto cereal seco puede a continuación procesarse, si se desea. Por ejemplo, si el cereal seco debe emplearse como cereal para desayuno, pueden mezclarse o aglomerarse en seco, frutos secos, nueces, otros cereales, productos de leche seca (tales como yogourt seco), con el cereal recubierto. Si se desea, el cereal seco puede ser posteriormente

recubierto con agentes protectores o agentes saborizantes, o ambos. Esto puede también efectuarse antes o durante el recubrimiento o rellenado de los pedazos secos con la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato del vehículo.

- 5 También es posible producir un producto cereal seco mezclando juntos, agua y los ingredientes del producto cereal; por ejemplo en un aparato preacondicionador. La mezcla húmeda puede a continuación conformarse en una forma deseada; por ejemplo, empleando cilindros de dar forma. La mezcla conformada puede a continuación, ser cocida en un horno; por ejemplo de aproximadamente 220°C a aproximadamente 280°C durante aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 1 hora. El producto de cereal seco tiene la apariencia de una galleta cocida al horno. El
10 recubrimiento o relleno puede aplicarse a continuación como se ha descrito más arriba.

- Alternativamente, el producto cereal puede formularse en alimentos de fácil y rápida preparación, tales como barras para bocadillos y similares. De nuevo el producto cereal puede mezclarse con nueces, frutos secos, azúcares u otros edulcorantes, agentes colorantes o agentes saborizantes, y similares. Puede añadirse a continuación, un aglomerante
15 adecuado, por ejemplo goma arábica o gelatina. Puede también incluirse un agente que reduce la facilidad a la rotura de la barra; por ejemplo trigo hidrolizado. Si se desea, puede recubrirse la barra con un recubrimiento adecuado; por ejemplo, chocolate. Los procedimientos para la elaboración de barras para bocadillos son ya bien conocidos y están descritas en la especialidad; ver por ejemplo la patente US 4.871.557.

- 20 Se apreciará que el producto cereal seco, listo-para-comer, puede obtenerse por cualquier procedimiento adecuado y no solamente por el que se ha descrito más arriba.

- En el caso de los alimentos humanos, el producto cereal seco, listo-para-comer, contiene de preferencia un suplemento nutricional. En el caso de alimentos para animales domésticos, el producto cereal listo-para-comer, seco, puede
25 darse a animales domésticos como única fuente de nutrición o puede ser suplementado mediante otras fuentes de nutrición; por ejemplo alimentos en lata. Cuando se consume en cantidades adecuadas, el producto cereal seco, listo-para-comer, da como resultado la producción de ácidos tales como el ácido láctico o ácido acético en el intestino del humano o del animal. Esto inhibe el crecimiento de bacterias patógenas tales como el *Clostridium perfringens* u otras que afectan adversamente al bienestar, y tiene por lo tanto un efecto beneficioso sobre el humano o animal. También,
30 los microorganismos probióticos se adhieren a las superficies intestinales y compiten con las bacterias indeseables. Además, puede inhibirse el crecimiento y actividad de las bacterias putrefactas y por lo tanto la producción de compuestos de amino tóxicos. Cantidades adecuadas del producto cereal listo-para-comer, seco, pueden dar también como resultado, la activación de la función inmunológica del humano o animal.

- 35 La cantidad de producto cereal, listo-para-comer, seco, que debe consumir el humano o animal para obtener un efecto beneficioso, dependerá del tamaño y edad del humano o animal. Sin embargo, sería normalmente adecuada una cantidad del producto cereal listo-para-comer, seco, que proporcionara una cantidad diaria de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{12} células del microorganismo probiótico.

- 40 Pueden hacerse numerosas modificaciones a las versiones descritas más arriba. Por ejemplo, no es necesario producir el producto cereal por cocción en la extrusión. En su lugar, el producto cereal puede producirse por cualquier método adecuado para producir pedazos de cereal listos-para-comer, seco. Por ejemplo, los materiales alimenticios pueden cocerse en el horno con agua para proporcionar una pasta conocida. A continuación, la pasta se seca en un rodillo para producir copos secos; normalmente de un grueso de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 1 mm.

- 45 Se describen ahora varios ejemplos específicos para una posterior ilustración.

Ejemplo 1

- 50 Se prepara una mezcla de alimentos a base de maíz, gluten de maíz, harina de pollo y pescado, sales, vitaminas y minerales. La mezcla de alimentos se introduce en un preacondicionador y se humedece. Los alimentos humedecidos que abandonan el preacondicionador se introducen a continuación en una extrusora de cocción y se gelatinizan. La matriz gelatinizada que deja la extrusora se fuerza a través de una boquilla y se extrusiona. El extrusionado que abandona la boquilla se corta en trozos adecuados para la alimentación a perros, se seca a aproximadamente
55 110°C durante aproximadamente 20 minutos, y se enfría para formar píldoras. La actividad al agua de las píldoras es aproximadamente 0,6.

- Las píldoras se pulverizan con tres mezclas diferentes de recubrimiento. Cada mezcla de recubrimiento contiene *Bacillus coagulans*, pero una mezcla de recubrimiento emplea grasa de soja hidrogenada como sustrato de recubrimiento, mientras que otra mezcla de recubrimiento emplea agua como sustrato de recubrimiento, y la restante mezcla de recubrimiento emplea un digerido de proteína como sustrato de recubrimiento. El *B. coagulans* está en forma de endoesporas pulverulentas y puede adquirirse en Sankyo Pharmaceutical Company con el nombre registrado de Lacris-S. Las píldoras contienen aproximadamente $1,6 \times 10^6$ células/g de *B. Coagulans*. Para cada mezcla de recubrimiento las píldoras se separan en dos grupos. Un grupo se almacena aproximadamente a 25°C y, para evaluar la estabilidad
65 a largo plazo del microorganismo, el otro grupo se almacena aproximadamente a 37°C. Se toma una muestra de cada grupo después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas y 4 semanas. También se toma una muestra recubierta de grasa del grupo que se almacena a 37°C, a las 8 semanas.

ES 2 164 299 T5

Se determinan los contejos de células para cada muestra. Los resultados se registran en la figura 1. En todos los casos, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes, lo cual indica una excelente estabilidad al almacenaje. Además, el resultado del almacenamiento a 37°C durante 8 semanas indica que los microorganismos son probablemente estables después de un año de almacenamiento en condiciones normales.

Ejemplo 2

Se repite el ejemplo 1, excepto que las tres diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una una *Bacillus subtilis* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *B. Subtilis* está en forma de endosporas en polvo y puede obtenerse de Hansen A/S con el nombre registrado de BioPlus 2B. Los resultados están indicados en la figura 2.

En todos los casos, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes, lo cual indica una excelente estabilidad al almacenamiento. Sin embargo, los contejos de células para las píldoras recubiertas con grasa son un poco inferiores a las del agua y digerido de proteína aunque todavía son sustancialmente constantes. De nuevo, los resultados del almacenamiento a 37°C durante 8 semanas indican que los microorganismos son probablemente estables después de un año de almacenamiento en condiciones normales.

Ejemplo 3

Se repite el ejemplo 1, excepto que las tres últimas diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una el *Pediococcus acidilactici* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *P. acidilactici* está en forma de un polvo seco y puede adquirirse en Lallmand SA con el nombre registrado de Bactocell. Los resultados del almacenamiento son como sigue:

Semanas	Grasa 25°C	Grasa 37°C	Agua 25°C	Agua 37°C	Digerido 25°C	Digerido 37°C
0	19,6x10 ⁶	19,6x10 ⁶	21,9x10 ⁶	21,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶
1	13,6x10 ⁶	13,6x10 ⁶	14,7x10 ⁶	14,7x10 ⁶	12,1x10 ⁶	2,93x10 ⁶
2	12,9x10 ⁶	12,9x10 ⁶	13,1x10 ⁶	13,1x10 ⁶	---	---
3	9,73x10 ⁶	6,69x10 ⁶	16,0x10 ⁶	6,07x10 ⁶	7,77x10 ⁶	0,76x10 ⁶
4	12,9x10 ⁶	4,6x10 ⁶	14,0x10 ⁶	5,31x10 ⁶	---	---
5	---	---	---	---	5,1x10 ⁶	0,68x10 ⁶
8	6,8x10 ⁶	1,5x10 ⁶	---	---	---	---

Para las píldoras recubiertas empleando agua o grasas, los contejos de células permanecen sustancialmente constantes a aproximadamente 10⁷ cfu/g; indicando una excelente estabilidad. Para las píldoras recubiertas empleando un digerido de proteína, cuando se almacenan a 37°C, los contejos de células disminuyeron inicialmente pero a continuación se estabilizaron a aproximadamente 10⁶ cfu/g; lo cual es adecuado.

Ejemplo 4

Se repite el ejemplo 1 excepto que las tres diferentes mezclas de recubrimiento contienen cada una el *Saccharomyces cerevisiae* en lugar del *Bacillus coagulans*. El *S. cerevisiae* está en forma de un polvo seco y puede adquirirse en Santel S.A. con el nombre registrado de Levucell. Los resultados del almacenamiento fueron los siguientes:

Semanas	Grasa 25°C	Grasa 37°C	Agua 25°C	Agua 37°C	Digerido 25°C	Digerido 37°C
0	28,0x10 ⁶	28,0x10 ⁶	27,6x10 ⁶	27,6x10 ⁶	11,3x10 ⁶	11,3x10 ⁶
1	23,2x10 ⁶	23,3x10 ⁶	17,2x10 ⁶	17,2x10 ⁶	7,53x10 ⁶	1,83x10 ⁶
2	24,5x10 ⁶	24,5x10 ⁶	18,7x10 ⁶	18,7x10 ⁶	---	---
3	24,5x10 ⁶	9,93x10 ⁶	13,5x10 ⁶	4,40x10 ⁶	1,99x10 ⁶	0,16x10 ⁶
4	13,7x10 ⁶	15,9x10 ⁶	---	---	---	---
5	---	---	---	---	2,42x10 ⁶	0,03x10 ⁶
8	17,5x10 ⁶	12,3x10 ⁶	---	---	---	---

ES 2 164 299 T5

Para las píldoras recubiertas empleando agua o grasas, los contajes de células permanecieron sustancialmente constantes a aproximadamente 10^7 cfu/g; indicando una excelente estabilidad al almacenamiento. Este es particularmente el caso de las píldoras recubiertas con grasas. Sin embargo, los contajes de células para las píldoras recubiertas con digerido de proteína son un poco inferiores que los del agua y grasa, pero son todavía aceptables cuando se almacenan a 25°C. Cuando se almacenan a 37°C, los contajes de células para las píldoras recubiertas con digerido de proteína, disminuyen.

Ejemplo 5

Se efectuó una prueba empleando 30 perros. Los perros se alimentaron con una dieta seca estándar durante una semana antes del principio de los ensayos. Inmediatamente antes del comienzo de los ensayos, se determinó la flora del intestino y una medida de los olores fecales para cada perro.

A continuación, se separaron los perros en dos grupos de 15 perros. Un grupo de perros se alimentó con píldoras recubiertas de grasa, secas, del ejemplo 1. El otro grupo de perros se alimentó con las mismas píldoras pero sin el recubrimiento de grasa y el microorganismo probiótico. Los perros tuvieron libre acceso a la comida y al agua.

Después de una semana, se analizó la flora intestinal de cada perro. Los perros que se alimentaron con las píldoras del ejemplo 1 tenían los contajes del *C. Perfringens* disminuidos. Además, el pH fecal y los olores se encontraron disminuidos en los perros que se alimentaron con las píldoras del ejemplo 1.

Ejemplo 6

Se prepara una mezcla de alimentos del 70% en peso de harina de maíz, 17% en peso de harina de trigo, 7% en peso de azúcar, 3% en peso de malta, 2% en peso de grasas vegetales, y sal. La mezcla de alimentos se introduce en un aparato preacondicionador y se humedece. El alimento humedecido que abandona el preacondicionador se introduce a continuación en una extrusora y se gelatiniza. La matriz gelatinizada que abandona la extrusora es forzada a través de una boquilla y se extrusiona. El extrusionado se expande después de abandonar la cabeza de la boquilla y se corta en pedazos de aproximadamente 1 cm. A continuación los pedazos se secan hasta un contenido de humedad de alrededor del 1% en peso.

Los pedazos se pulverizan con dos diferentes mezclas de recubrimiento. Cada mezcla de recubrimiento contiene aceite de girasol como sustrato del vehículo pero un diferente microorganismo. Los microorganismos son:

Microorganismo	Fuente	Forma
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Santel SA (Levucell™)	Polvo seco por pulverización
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	Bioferment Division of Cerbios Pharma SA (LBC-K™), Suiza	Polvo seco por pulverización

Ambos microorganismos están comercialmente disponibles. Todos los pedazos contienen aproximadamente 10^6 células/g a 10^7 células/g del microorganismo probiótico. Para obtener una idea de la estabilidad del microorganismo a largo plazo, los pedazos se almacenaron a aproximadamente 37°C. Se tomó una muestra de cada grupo inmediatamente después de la producción, después de 1 semana y después de 3 semanas.

ES 2 164 299 T5

Se determinaron los contajes de células viales para cada muestra. Los resultados son como sigue:

Microorganismo	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6,40 x 10 ⁶	2,21 x 10 ⁶	3,90 x 10 ⁶
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	1,38 x 10 ⁶	8,60 x 10 ⁶	4,03 x 10 ⁶

Los resultados indican que los microorganismos probióticos permanecen sustancialmente estables.

Ejemplo 7

se repitió el procedimiento del ejemplo 6, excepto que la mezcla de recubrimiento es una mezcla seca de los microorganismos probióticos y polvo con sabor de chocolate (polvo de Nesquik®). La mezcla seca se recubre sobre los pedazos empleando el procedimiento descrito en la patente US 4.777.056 y empleando un aceite vegetal como agente aglomerante.

Además, se emplearon los siguientes microorganismos:

Microorganismo	Fuente	Forma
<i>B. coagulans</i>	Sankyo Pharmaceutical Company (Lacris-S™) Japón	Endoesporas en polvo
<i>J. johnsonii</i> La1	Nestec SA	Polvo seco por liofilización
<i>Bifidobacterium animalis/longum</i>	Ch. Hansen A/S (Bb12™), Dinamarca	Polvo seco por liofilización
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Santel SA (Levucell™)	Polvo seco por pulverización
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	Bioferment División of Cerbios Pharma SA (LBC-K™), Suiza	Polvo seco por pulverización

El primero, tercero, cuarto y quinto microorganismos están comercialmente disponibles. El segundo microorganismo está descrito en la patente EP 0577904 y fue depositado en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes ("Colección nacional de cultivos de microorganismos") (CNCM), instituto Pasteur, 28 calle del Dr. Roux, 757724 Paris Cedex 15, Francia el 30 de junio de 1992, bajo el número CNCM I-1225 y el nombre La 1 por la Société de Produits Nestlé, S.A.

ES 2 164 299 T5

Se determinaron los contajes de células para cada muestra. Los resultados fueron como sigue:

Microorganismo	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
<i>B. coagulans</i>	$6,37 \times 10^6$	$5,07 \times 10^6$	$4,24 \times 10^6$
<i>L. johnsonii</i> <i>Lal</i>	$1,43 \times 10^6$	$3,21 \times 10^5$	$1,39 \times 10^5$
<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>/longum</i>	$8,06 \times 10^6$	$2,95 \times 10^6$	$9,80 \times 10^5$
<i>Saccharomyces cereviseae</i>	$2,43 \times 10^5$	$2,17 \times 10^5$	$1,38 \times 10^5$
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	$1,94 \times 10^6$	$5,70 \times 10^5$	$1,50 \times 10^4$

Los resultados indican que el *B. coagulans* y el *Bifidobacterium animalis/longum* permanecerán probablemente estables durante largos períodos. Los otros microorganismos muestran una inferior pero aceptable estabilidad.

Ejemplo 8

Productos cereales expandidos, producidos como se ha descrito en el ejemplo 6, se recubren con tres sustratos de recubrimiento. El producto 1 se prepara recubriendo el producto cereal con aceite vegetal y a continuación se espolvorea sobre un polvo de leche secada por pulverización el cual contiene *L. johnsonii* Lal, el producto 2 se prepara recubriendo el producto cereal con aceite vegetal y a continuación se espolvorea sobre una mezcla de polvo de leche secada por pulverización la cual contiene *L. johnsonii* Lal y un polvo conteniendo cacao (polvo de Nesquik®); el producto 3 se prepara suspendiendo un polvo de leche secada por pulverización que contiene *L. johnsonii* Lal en un aceite vegetal y pulverizando el aceite (sin presión) sobre el producto cereal.

Se determinó el contaje de células para cada producto. Los resultados fueron los siguientes:

Producto	Contaje de células Día 1 (células/g)	Contaje de células 1 semana (células/g)	Contaje de células 3 semanas (células/g)
1	$3,86 \times 10^7$	$4,42 \times 10^7$	$3,00 \times 10^7$
2	$1,59 \times 10^7$	$2,30 \times 10^7$	$1,65 \times 10^7$
3	$3,51 \times 10^7$	$4,61 \times 10^6$	$3,36 \times 10^6$

Los resultados indican que los microorganismos probióticos permanecen sustancialmente estables.

Ejemplo 9

Se efectúa un ensayo empleando 20 voluntarios adultos. Inmediatamente antes del comienzo de las pruebas, se determina la flora intestinal de cada voluntario. A continuación se separan los voluntarios en dos grupos de 10 personas. Un grupo es alimentado, para el desayuno, con una porción de 30 g del producto 1 del ejemplo 8 junto con leche fría. El otro grupo es alimentado con el mismo producto cereal pero sin el recubrimiento de grasa y microorganismo probiótico. El resto de las comidas durante el día son las comidas normales ingeridas por los voluntarios.

Después de una semana, se analiza la flora intestinal de cada voluntario. Los voluntarios que han sido alimentados con el Producto 1 han disminuido los contajes de *C. perfringens*.

REIVINDICACIONES

Reivindicaciones para el(los) siguiente(s) estado(s)m contractual(es): GB

- 5 1. Un producto cereal seco, listo-para-comer, que contiene una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un relleno que contiene un microorganismo probiótico, el cual relleno comprende un sustrato de soporte que contiene el microorganismo.
- 10 2. Un producto cereal seco, listo-para-comer, que comprende una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento que contiene un microorganismo probiótico, el cual recubrimiento comprende un sustrato de soporte el cual contiene el microorganismo, en donde el producto contiene 0,5-20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato de soporte.
- 15 3. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1, en forma de un cereal para desayuno, un cereal para niños o una comida de preparación rápida y sencilla.
4. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual la matriz de almidón gelatinizado está en forma de copos o en forma expandida.
- 20 5. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en forma de un alimento para animales domésticos.
6. Un producto cereal, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el cual la matriz gelatinizada es una fuente de almidón cocido extrusionado.
- 25 7. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el cual el sustrato del soporte es una grasa, un digerido de proteína, sólidos lácteos, un azúcar o un agente saborizante en partículas.
- 30 8. Un producto cereal de acuerdo con la reivindicación 5, el cual comprende además una capa de un lípido sobre la matriz de almidón gelatinizado, produciendo esta capa líquida un sustrato de soporte en partículas, el cual contiene el microorganismo probiótico, que se adhiere a la matriz de almidón gelatinizado.
- 35 9. Un producto cereal, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el microorganismo probiótico se ha seleccionado entre *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis/longum*, *L. johnsonii La1*, *Pediococcus acidilactici*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Enterococcus faecium* SF68.
10. Un producto cereal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene además, una fuente de fibra soluble.

40

Reivindicaciones para el(los) siguiente(s) estado(s)m contractual(es): AT, SE

- 45 1. Un producto cereal seco, listo-para-comer, que contiene una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un relleno que contiene un microorganismo probiótico, el cual relleno comprende un sustrato de soporte que contiene el microorganismo.
- 50 2. Un producto cereal seco, listo-para-comer, que comprende una matriz de almidón gelatinizado, la cual incluye un recubrimiento que contiene un microorganismo probiótico, la cual matriz de almidón gelatinizado está en forma expandida, y el recubrimiento comprende un sustrato de soporte el cual contiene el microorganismo, en donde el producto contiene 0,5-20% en peso de la mezcla del microorganismo probiótico y el sustrato de soporte.
- 55 3. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1, en forma de un cereal para desayuno, un cereal para niños o una comida de preparación rápida y sencilla.
4. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual la matriz de almidón gelatinizado está en forma de copos o en forma expandida.
- 60 5. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en forma de un alimento para animales domésticos.
6. Un producto cereal, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el cual la matriz gelatinizada es una fuente de almidón cocido extrusionado.
- 65 7. Un producto cereal, de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el cual el sustrato del soporte es una grasa, un digerido de proteína, sólidos lácteos, un azúcar o un agente saborizante en partículas.

ES 2 164 299 T5

8. Un producto cereal de acuerdo con la reivindicación 5, el cual comprende además una capa de un lípido sobre la matriz de almidón gelatinizado, produciendo esta capa líquida un sustrato de soporte en partículas, el cual contiene el microorganismo probiótico, que se adhiere a la matriz de almidón gelatinizado.

5 9. Un producto cereal, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el microorganismo probiótico se ha seleccionado entre *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis/longum*, *L. johnsonii La1*, *Pediococcus acidilactici*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Enterococcus faecium* SF68.

10 10. Un producto cereal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene además, una fuente de fibra soluble.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

