

(12) **GEBRAUCHSMUSTERSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: 672/96

(51) Int.Cl.⁶ : **A23L 1/03**
A23L 1/10, A23C 9/123

(22) Anmeldetag: 14.11.1996

(42) Beginn der Schutzdauer: 15.10.1997

(45) Ausgabetag: 25.11.1997

(30) Priorität:

4.11.1996 WO PCT/AT 96/00212 beansprucht.

(73) Gebrauchsmusterinhaber:

ED. HAAS NÄHRMITTEL GESELLSCHAFT M.B.H.
A-4050 TRAUN, OBERÖSTERREICH (AT).

(54) **PROBIOTISCH WIRKSAME FORMULIERUNGEN**

(57) Beschrieben wird eine probiotisch wirksame Formulierung enthaltend durch Lyophilisierung stabilisierte Mikroorganismen und einen lebensmitteltechnischen Trägerstoff, welcher den lyophilisierten Mikroorganismen einen Magensaft-Durchtritt in höherer Keimzahl ermöglicht, wobei die lyophilisierten Mikroorganismen im Trägerstoff eingeschmolzen sind, deren Verwendung als lebensmitteltechnischer Zusatzstoff sowie Lebensmittel, insbesondere Müsli, enthaltend diese Formulierung.

AT 001 759 U1

Die Erfindung betrifft probiotisch wirksame Formulierungen, insbesondere zur Anwendung im Bereich der Lebensmitteltechnologie.

Als "Probiotika" werden nach einer modernen Definition (Havenaar et al., "Probiotics: A General View" in: "The Lactic Acid Bacteria, Volume 1", B.J.B. Wood Ed. (1992), Elsevier Applied Science, 155/156) Mono- oder Mischkulturen lebender Mikroorganismen bezeichnet, die an Tier und Mensch angewendet werden und den Wirt durch die Verbesserung der Eigenschaften der natürlich vorhandenen Mikroflora vorteilhaft beeinflussen. Das bedeutet, daß der Begriff Probiotika nur auf Produkte zutrifft, die

- lebende Mikroorganismen enthalten (z.B. als gefriergetrocknete Zellen oder in fermentierten Produkten),
- den Gesundheitsstatus von Mensch und Tier verbessern,
- die Wirkung im Mund, dem gastrointestinalen Trakt, dem oberen respiratorischen Trakt oder dem Urogenitaltrakt entfalten können.

Der Begriff "Milchsäurebakterien" (MSB) umfaßt eine Kategorie von Mikroorganismen, die in den letzten Jahren, bedingt durch ihre humanspezifischen und lebensmitteltechnologischen Eigenschaften, in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses gerückt sind und in zunehmenden Ausmaß in probiotischen Zusammensetzungen vorgesehen werden.

Taxonomisch beinhaltet das Spektrum der Milchsäurebakterien derzeit im wesentlichen die Gattungen Lactobacillus, Streptococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Bifidobacterium, Carnobacterium und Sporolactobacillus (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, IX. Aufl.). Einige dieser Vertreter (Lactobacillus, Bifidobacterium und Enterococcus) gelten als natürliche und nützliche Darmbewohner des Menschen (und auch der Tiere) und treten dort - in Abhängigkeit vom Darmabschnitt, Lebensalter und Ernährungsgewohnheiten - in unterschiedlich hohen Keimzahlen auf. Allgemein wird die Wirkung der Milchsäurebakterien in vier Haupteffekte unterteilt:

1. Biochemische (u.a. Verbesserung der Nährstoffverwertung)

2. Physiologische (u.a. Stimulierung der Darmperistaltik)
3. Antimikrobielle (z.B. repressive Wachstums hemmung pathogener Keime)
4. Kompetitive (z.B. Inaktivierung von Enterotoxinen).

Die Erhaltung einer ausgewogenen Mikroflora des Darmes durch die Applikation bestimmter MSB über den Nahrungsmittelweg erscheint daher aus den obgenannten Gründen als zielführend. Im Vordergrund stehen heute diätetische, prophylaktische und therapeutische Indikationen, wie u.a. bei Reisediarrhoe, Behandlung von Obstipationen, Restitution einer gestörten Darmflora nach Antibiotikaeinnahme, regulierende Funktion bei Stress-Situationen, Erniedrigung des Cholesterinspiegels, Krebstherapie, Zahnfleischentzündungen, Vaginitis, bei diversen Diätformen, etc..

Menschen auf der ganzen Erde haben mit MSB fermentierte Milchprodukte (fMP) als gesunde Nahrung seit sehr langer Zeit zu sich genommen. Seit 1966 wird die Konsumation von fMP von der International Dairy Federation erfaßt und aufgezeichnet. Die Konsumation von Yogurth hat z.B. beträchtlich zugenommen, vermutlich wegen des wahrnehmbaren gesundheitlichen Nutzens (pro Kopf-Konsumation 1987 in Österreich: 7 kg; in Deutschland (West): 9,7 kg; Spanien: 7,3 kg; Schweiz: 16,5 kg; Fernandes et al., "Fermented Dairy Products and Health" in: "The Lactic Acid Bacteria, Volume 1", B.J. Wood Ed. (1992), Elsevier Applied Science, 298). Diese herkömmlichen Lebensmittel enthalten ~~ke~~ lebende Mikroorganismen jedoch in zu niedriger Konzentration und erfüllen nicht die notwendigen Voraussetzungen, um die für eine effiziente Wirkung unbedingt notwendige hohe Konzentration der Mikroorganismen in den Darm gelangen zu lassen (Laulund, "Commercial Aspects of Formulation, Production and Marketing of Probiotic Products" in: "Human Health: The Contribution of Microorganisms", S.A.W. Gibson Ed. (1994), Springer Verlag, 160).

Für die Funktionalität lebensfähiger bzw. lebender Milchsäurebakterien ist entscheidend, daß sie in genügend hoher Keimdichte aufgenommen werden, da durch die natürlichen Barrieren ständig die

Abtötung von Mikroorganismen erfolgt.

Insbesondere bei der direkten peroralen Verabreichungsform lebensfähiger Mikroorganismen ist zu beachten, daß je nach Gattung bzw. Stamm der größte Teil der Bakterien bereits im Magen aufgrund des dort vorherrschenden sauren Milieus zerstört wird.

Lebende Mikroorganismen sind schwer stabilisierbar, in Präparationen liegen sie daher meist in getrockneter Form vor. Die Darstellung kann durch unterschiedliche Trocknungsprozesse, wie Lyophilisation, Sprühtrocknung, etc. erfolgen.

Die Verarbeitung zu Tabletten mit magensaftresistenten Filmüberzügen ist problematisch: einerseits ist das Überzugsmaterial (z.B. Eudragit®) für Lebensmittelprodukte nicht zugelassen, andererseits wird die Anzahl der lebensfähigen Mikroorganismen durch den Tablettiervorgang aufgrund der einwirkenden Scherkräfte meist stark reduziert. Eine Verabreichung in magensaftresistenten Hartgelatine kapseln bleibt wegen der speziellen und teuren Technologie auf den pharmazeutischen Bereich beschränkt.

Schließlich sind bei vielen auf dem Markt befindlichen Produkten erhebliche Qualitätsschwankungen festzustellen. Das liegt hauptsächlich daran, daß die großtechnische Herstellung und Verarbeitung von probiotisch wirksamen Formulierungen aufgrund ihrer biologischen Natur heikel und nur schwer reproduzierbar ist (Brennan et al., J.Food Prot. 46 (1983), 887-892).

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht daher darin, eine probiotisch wirksame Formulierung zur Verfügung zu stellen, welche einen hohen Grad an Magensaftresistenz aufweist, einfach als Lebensmittel-Zusatzstoff zu verabreichen und verarbeiten ist und in reproduzierbarer Weise auch großtechnisch hergestellt und verwendet werden kann. Darüberhinaus sollten diese Formulierungen eine hohe Lagerstabilität aufweisen, was insbesondere bei derart empfindlichen Produkten von großer Bedeutung ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine probiotisch wirksame Formulierung umfassend durch Lyophilisierung stabilisier-

te Mikroorganismen und einen lebensmitteltechnischen Träger- und Hüllstoff, welcher den durch Lyophilisierung stabilisierten Mikroorganismen einen Magensaft-Durchtritt in einer mindestens um das Zehnfache höherer Keimzahl, verglichen mit der reinen, getrockneten Mikroorganismen-Präparation, ermöglicht, wobei die durch Lyophilisierung stabilisierten Mikroorganismen im Trägerstoff eingeschmolzen oder - im Falle von flüssiger oder breiiger Konsistenz des Trägerstoffes - in diesem Trägerstoff suspendiert ist.

Als erfindungsgemäße lebensmitteltechnische Träger- und Hilfsstoffe werden Pflanzenfette bzw. Pflanzenfett-Produkte angesehen. Dazu sind besonders zu zählen: flüssige Pflanzenöle auf Basis von Naturstoffen mit geringen Anteilen (unter 3 %) von ungesättigten Fettsäuren (incl. handelsübliche teilhydrierte Öle, die für den normalen Verzehr bestimmt sind), feste pflanzliche Fette, wie Kakaobutter, Kokosfett oder sonstige Fette pflanzlichen Ursprungs mit teilweiser oder insbesondere jene mit vollständiger Hydrierung. Die erfindungsgemäßen Träger- und Hilfsstoffe zeichnen sich durch weitgehende Wasserfreiheit aus, i.e. ihr Wassergehalt liegt unter 0,5 %, vorzugsweise unter 0,01 %, insbesondere unter 0,001 %. Diese Träger- und Hüllstoffe bilden einen effizienten Schutz nicht nur gegen Feuchtigkeit bei der Lagerung, sondern auch bei der Magen-Passage. Weiters wird durch die einfache Möglichkeit der Verarbeitung (Einschmelzug, Suspension) die technologische Umsetzung zu fertigen Lebens- und Genußmitteln sehr erleichtert. Der Träger- und Hüllstoff kann im einfachsten Anwendungsfall direkt als Schmelze appliziert werden und haftet nach dem Erkalten auf dem Lebens- bzw. Genußmittel an dessen Oberfläche an. Weiters wird durch das Vorliegen in eingeschmolzener bzw. suspendierter Form die weitere Verarbeitung erheblich erleichtert, da auch hierbei der Trägerstoff den empfindlichen Mikroorganismen diese Schutzhülle bietet.

Die Besonderheit der vorliegenden Erfindung besteht darin, daß eine mikroorganismenhältige Formulierung hergestellt wird, die einen hohen Grad an Magensaftresistenz aufweist und einfach zu verarbeiten ist. Die Herstellung kann mit hoher Reproduzierbarkeit auch großtechnisch durchgeführt werden; die erhaltenen Formulierungen eignen sich hervorragend als Zusatz zu Lebens- und Genußmitteln.

Erst die Einbettung in die erfindungsgemäßen lebensmitteltechnischen Trägerstoffe ermöglicht, daß eine überraschend hohe Anzahl von lebenden Zellen in den Darm gelangen können. Die bisher verwendeten magensaftresistenten Lacke wie Eudragit® sind nur zur Verabreichung von äußerst limitierten Mengen erlaubt, sie sind aber nicht Lebensmittel-tauglich und insbesondere ungeeignet bei den Mengen an probiotisch wirksamen Formulierungen, welche zwangsläufig beim Verzehr eingenommen werden.

Die erfindungsgemäßen Präparationen können in einfacher Weise in komplexere Lebensmittel eingearbeitet werden. So kann sie leicht zur Herstellung eines diätetisch wertvollen Müesli, Schokoriegel oder Kakaogetränk verwendet werden. Dies gilt insbesondere für die anderen vollständig hydrierten Pflanzenfette, wobei in diesem Fall das Anwendungsspektrum noch erheblich größer ist. Diese können beispielsweise für Konditoreiwaren oder Füllungen aller Art in der Lebensmittelindustrie Anwendung finden.

Die Einbringung der Mikroorganismen in den Trägerstoff kann insbesondere zwei Probleme aufwerfen. Bedingt durch die Schmelzwärme können lyophilisierte Milchsäurebakterien geschädigt werden. Es sollten daher nicht allzu hohe Temperaturen bei der Herstellung angewendet werden dürfen. Als feste Trägerstoffe kommen daher insbesondere solche Stoffe in Betracht, welche sich schon bei Temperaturen unter 60°C, vorzugsweise unter 50°C oder - noch bevorzugter - bei maximal 40°C, zumindest teilweise verflüssigen lassen. Beim Einschmelzprozeß werden nach Möglichkeit größere Temperaturgradienten vermieden, so daß die Mikroorganismen so schonend wie möglich in den Trägerstoff eingearbeitet werden.

Das zweite große Problem bei der Verarbeitung liegt in den nachteiligen hygroskopischen Eigenschaften des Lyophilisats selbst. Lyophilisate weisen nach dem Gefriertrocknungsprozeß a_w -Werte im Bereich von 0,1 bis 0,15 auf. Sie sind befähigt, aus der Umgebung Wasser rasch in großer Menge aufzunehmen. Da in jedem Milchsäurebakterien-Lyophilisat Nährbodenreste enthalten sind, wird durch die Wasseraufnahme unmittelbar eine Initialisierung der Lebensvorgänge in den Mikroorganismen herbeigeführt. Dies gilt selbstver-

ständig noch mehr für Bakterien-Präparate, welche nicht als Lyophilisate vorliegen, sondern beispielsweise als sprüh- oder wärmegetrocknete Joghurt-, Voll- oder Magermilchkulturen, da jene noch einen viel höheren Gehalt an Nährstoffen aufweisen und daher eine Initialisierung der Lebensvorgänge bei der lebensmitteltechnologischen Verarbeitung dieser Präparationen nicht verhindert werden kann.

Erfindungsgemäß werden daher ausschließlich lyophilisierte Mikroorganismen verwendet, wobei diese vorzugsweise einen Restgehalt an Nährstoffen oder anderen Beimengungen von weniger als 10 %, besonders bevorzugt weniger als 5 %, meist um 3 % auf.

Gemäß der vorliegenden Erfindung werden die lyophilisierten Mikroorganismen direkt in die geeigneten Träger- und Hüllstoffe eingebracht (z.B. eingeschmolzen), wodurch diese Stoffe sofort ihre Schutzwirkung entfalten können und ein Kontakt zur Umgebungsluft (und der darin enthaltenen Feuchtigkeit) weitgehend vermieden wird. Durch die erfindungsgemäßen Träger- und Hilfsstoffe wird also eine luftdichte und wasserabstoßende Einbettung der lyophilisierten Mikroorganismen ermöglicht, wodurch die Lagerstabilität der gewonnenen Formulierungen gegenüber den bisher in der Lebensmitteltechnologie verwendeten Präparaten entscheidend verbessert wird. Die erfindungsgemäßen probiotischen Formulierungen aus lyophilisierten Mikroorganismen und Träger- und Hüllstoff weisen daher einen a_w -Wert von unter 0,1, vorzugsweise zwischen 0,05 und 0,1, auf. Ermittelt werden diese Werte durch Messung der ErH ("Equilibrium relative Humidity") über den Formulierungen in einer kalibrierten Feuchtmeßzelle.

Überraschenderweise haben die erfindungsgemäßen Trägerstoffe auch einen Magensaftresistenz-verleihenden Effekt auf die Mikroorganismen. Diese Trägerstoffe ermöglichen offensichtlich eine effiziente Schutzhülle, welche durch die Magensäfte nicht oder nur leicht angegriffen wird, um die Bakterien, sodaß diese in hoher Keimzahl in den Darm gelangen können.

Als lyophilisierte Mikroorganismen werden im besonderen Stämme aus den Familien Lactobacteriaceae, vorzugsweise aus den Gattungen

Streptococcus, Lactobacillus, Enterococcus und Bifidobacterium, und Enterobacteriaceae, vorzugsweise aus den Gattungen Enterobacter und Escherichia in den erfindungsgemäßen Formulierungen verwendet, wobei die Arten Lactobacillus delbrückii subsp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei subsp. casei, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus lactis, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus plantarum, Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Enterococcus faecium, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum (sowie weitere Bifidobakterium-Arten) und physiologische Escherichia coli sowie Mischungen dieser Mikroorganismen besonders bevorzugt sind.

Bei den erwähnten Arten ist ihre physiologisch bedeutsame probiotische Wirkung schon hinlänglich beschrieben worden; ihre lebensmitteltechnisch große Bedeutung macht sie zu bevorzugten Mikroorganismen im Rahmen der vorliegenden Erfindung.

Die erfindungsgemäße Formulierung umfaßt günstigerweise weiters Formulierungshilfsstoffe oder technisch notwendige Hilfsstoffkomponenten, wie Emulgatoren (z.B. Ei- und Soja-Lecithin) und Antioxidantien (z.B. Ascorbylpalmitat und div. Tocopherole). Die eingesetzte Konzentration dieser Stoffe richtet sich nach den lebensmitteltechnologisch gängigen Mengen.

Die erfindungsgemäße probiotisch wirksame Formulierung umfaßt in der Regel

- 1 bis 90 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 30 Gew.-%, durch Lyophilisation stabilisierte Mikroorganismen,
- 10 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 70 bis 90 Gew.-%, lebensmitteltechnische Träger- und Hüllstoffe und
- 0 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 5 Gew.-%, Hilfsstoffe

Besonders bevorzugt sind Formulierungen, welche 10 bis 25, insbesondere 15 bis 23 Gew.-%, an lyophilisierten Mikroorganismen aufweisen.

Die Erfindung betrifft selbstverständlich auch Lebensmittel aller Art, welche eine erfindungsgemäße probiotisch wirksame Formulierung umfassen, insbesondere Reformprodukte, welche diätetisch be-

sonders wertvoll sein müssen. Besonders bevorzugt sind Müsliprodukte, Müsliriegel, Ballaststoffprodukte, Sojaprodukte und diätetisch besonders anspruchsvolle Konditor-Waren.

Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung der erfindungsgemäßen probiotisch wirksamen Formulierungen als Zusatzstoffe für Lebensmittel oder Arzneimittel, insbesondere zur Herstellung einer Präparation oder eines Lebensmittels zur Unterstützung der Behandlung von Störungen der Darmflora.

Eine ganz besonders bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft ein Müsli, welches die folgende Zusammensetzung aufweist:

- 70 bis 90 Gew.-% Getreideflocken
- 1 bis 15 Gew.-% Nüsse und Trockenfrüchte,
- 1 bis 10 Gew.-% Kohlehydrate, vorzugsweise umfassend
Sirupe als Bindemittel,
- 1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 2 bis 5 Gew.-%, erfindungsgemäße probiotische Formulierung
- 0 bis 1 Gew.-%, Aromen
- 0 bis 0,01 Gew.-% Antioxidantien

Als Getreideflocken werden hauptsächlich Haferflocken und Weizenflocken eingesetzt, jedoch können auch Roggen-, Soja-, Gersten- und Maisprodukte u. dgl. verwendet werden. Als Nüsse können sämtliche genießbare Sorten verwendet werden, vorzugsweise natürlich Haselnüsse, Walnüsse, Kokosnüsse, Mandeln, Pecannüsse und Erdnüsse.

Das erfindungsgemäße Müsli kann zusätzlich Früchte aller Art, vorzugsweise getrocknete Früchte, enthalten. Bevorzugt sind dabei Rosinen, getrocknete bzw. gepulverte Pfirsiche, Marillen, Orangen, Zitronen, Äpfel und Birnen.

Das Müsli kann zusätzlich noch geeignete Bestandteile, wie z.B. Aromastoffe, Süßstoffe, weitere Ballaststoffe, Vitamine, Mineralstoffe, extrudierte Cerealien-Produkte, enthalten.

Ein weiters bevorzugtes Müsli gemäß der vorliegenden Erfindung enthält:

- 30 bis 90 Gew.-% Haferflocken und Nüsse
- 1 bis 70 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 20 Gew.-%, Schokoladekomponenten, wobei diese zumindest 1 Gew.-% einer probiotisch wirksamen Formulierung enthalten,
- 0 bis 69 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 30 Gew.-% Fruchtanteile
- 0 bis 20 Gew.-% Zucker und
- 0 bis 20 Gew.-% sonstige Bestandteile.

Schokoladekomponenten sind beispielsweise Milkschokolade, Kochschokolade, Kakao, extrudierte Schokolade, Bitterschokolade, Schokoflocken oder -streusel, aber auch geeignete Schokolade-Ersatzstoffe, wie z.B. Carobin, und natürlich eine erfindungsgemäße probiotisch wirksame Präparation.

Ein weiteres spezielles erfindungsgemäßes Müsli enthält:

- 50 bis 70 Gew.-% Getreideflocken und Nüsse
- 1 bis 40 Gew.-%, vorzugsweise 10 bis 20 Gew.-%, Schokoladekomponenten, wobei diese jedenfalls zumindest 1 Gew.-% einer erfindungsgemäßen probiotisch wirksamen Formulierung enthalten,
- 2 bis 15 Gew.-% Fruchtanteile
- 0 bis 10 Gew.-% Zucker und
- 0 bis 10 Gew.-% sonstige Bestandteile.

Das erfindungsgemäße Müsli weist eine abgestimmte Komposition der Bestandteile auf, welche eine gute probiotische Wirkung der erfindungsgemäßen Formulierung besonders unterstützt.

Vorzugsweise ist das Müsli als Knabberprodukt formuliert, wobei Zuckersirupe als Bindemittel zur Agglomeration der Müslibestandteile dienen und ein Backprozeß dem Müsli selbst einen typischen Geschmack und den erforderlichen niedrigen Restwassergehalt, somit niedrige Wasseraktivität (a_w -Wert $< 0,3$) verleiht. Das beschriebene Müsli kann demjenigen gemäß dem Stand der Technik zur Herstellung von Frühstückscerealien entsprechen, wobei die Aufbringung der er-

findungsgemäßen Formulierung auf das Sirup-gebundene Müsli gesondert erfolgen kann.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen probiotisch wirksamen Formulierungen erfolgt vorzugsweise derart, daß die durch Lyophilisierung stabilisierten Mikroorganismen in den Trägerstoff eingeschmolzen bzw. im Falle von flüssiger oder breiiger Konsistenz des Trägerstoffes, in diesem Trägerstoff suspendiert werden und anschließend der Mikroorganismen enthaltende Trägerstoff mit den übrigen Komponenten der Formulierung gemischt (vorzugsweise granuliert) und gegebenenfalls verarbeitet und/oder verpackt wird.

Die Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispiele, auf die sie jedoch nicht beschränkt sein soll, noch weiter erläutert.

Beispiele:

1.: Herstellung einer probiotisch wirksamen Träger- und Hüllstoffformulierung mit *L. acidophilus* und CEBES®

Ein Lyophilisat von *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus* 74-2, Wiesby) mit einer garantierten Keimdichte von $1,0 \times 10^{11}$ KbE/g wurde in einer Menge von 500 g in einer Träger- und Hüllstoffschmelze, bestehend aus 2500 g CEBES® (laurischer Kakaobuttersubstitut, Aarhus Olie, DK) und 25 g Ronoxan™ (Hoffmann-LaRoche, CH) bei einer Temperatur der Schmelze von 40°C eingebracht und gemischt.

2.: Herstellung eines erfindungsgemäßen Müsli mit *L. acidophilus*

45,5 kg trockenes Kuspermüsli (Firma Haas, AT) wurde in einem Dragierkessel mit der in Beispiel 6 erhaltenen Formulierung überzogen. Diese Teil-Charge wurde auf 1000 kg Gesamtmenge mit unbehandeltem Müsli ergänzt, rückgemischt und verpackt.

3.: Keimzahl-Monitoring

In Reihenfolge enthielten:

- Formulierung gemäß Beispiel 6: $4,0 \times 10^{10}$ KbE/g

- Teilcharge gemäß Beispiel 7: $3,8 \times 10^9$ KbE/g
- Fertigprodukt gemäß Beispiel 7: $1,2 \times 10^8$ KbE/g

Die Keimzahlen von Lactobacillus wurden auf Rogosa-Agar mittels Plattengußverfahren aus verschiedenen Verdünnungsstufen des Ausgangsmaterials bestimmt. Die Platten wurden für 72 h bei 37°C im anaeroben Millieu inkubiert und die erhaltenen Kolonien ausgewertet.

4.: Sensorik:

Sensorisch war das fertige Müsli vom Vorprodukt (Haas-Müsli, Firma Haas, AT) nicht zu unterscheiden und wies dessen Aroma sowie textuellen Eigenheiten auf.

A n s p r ü c h e :

1. Probiotisch wirksame Formulierung enthaltend durch Lyophilisierung stabilisierte Mikroorganismen und Pflanzenfette bzw. Pflanzenfettprodukte als Träger- oder Hüllstoffe, wobei die lyophilisierten Mikroorganismen in den Träger- oder Hüllstoffen eingeschmolzen oder, im Falle von flüssiger oder breiiger Konsistenz der Träger- oder Hüllstoffe, in diesen Träger- oder Hüllstoffen suspendiert sind und einen a_w -Wert von 0,1 aufweisen.
2. Probiotisch wirksame Formulierung nach Anspruche 1, dadurch gekennzeichnet, daß die lyophilisierten Mikroorganismen ausgewählt sind aus den Familien Lactobacteriaceae, vorzugsweise aus den Gattungen Streptococcus, Lactobacillus, Enterococcus und/oder Bifidobacterium, und Enterobacteriaceae, vorzugsweise aus den Gattungen Enterobacter und/oder Escherichia.
3. Probiotisch wirksame Formulierung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die lyophilisierten Mikroorganismen ausgewählt sind aus den Arten Lactobacillus delbrückii subsp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus subsp. casei, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus lactis, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus plantarum, Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Enterococcus faecium, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum und physiologische Escherichia coli sowie Mischungen dieser Arten.
4. Probiotisch wirksame Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, umfassend
 - 1 bis 90 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 30 Gew.-%, durch Lyophilisation stabilisierte Mikroorganismen,
 - 10 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 70 bis 90 Gew.-%, lebensmitteltechnische Träger- und Hüllstoffe und

- 0 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 5 Gew.-%, Hilfsstoffe.

5. Probiotisch wirksame Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, sie als Träger- oder Hüllstoffe vollständig hydrierte und wasserfreie Pflanzenfette umfaßt.

6. Probiotisch wirksame Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie lyophilisierte Mikroorganismen der Art *Lactobacillus acidophilus*, vollständig hydrierte, wasserfreie Pflanzenfette und gegebenenfalls Antioxidantien und Emulgatoren umfaßt.

7. Verwendung von probiotisch wirksamen Formulierungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6 als Zusatzstoffe für Lebensmittel.

8. Lebensmittel und Genußmittel, insbesondere Reformprodukte, welche eine probiotisch wirksame Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 umfassen.

9. Müsli, umfassend:

- 70 bis 90 Gew.-% Getreideflocken

- 1 bis 15 Gew.-% Nüsse und Trockenfrüchte,

- 1 bis 10 Gew.-% Kohlehydrate, vorzugsweise umfassend von Sirupen als Bindemittel,

- 1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 2 bis 5 Gew.-%, probiotische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,

- 0 bis 1 Gew.-%, Aromen

- 0 bis 0,01 Gew.-% Antioxidantien

10. Schokomüsli, welches die folgende Zusammensetzung aufweist:

- 30 bis 90 Gew.-% Haferflocken und Nüsse

- 1 bis 70 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 20 Gew.-%, Schokoladekomponenten, wobei diese zumindest 1 Gew.-% einer probiotisch wirksamen Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 enthalten,

- 0 bis 69 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 30 Gew.-% Fruchtanteile

- 0 bis 20 Gew.-% Zucker und

- 0 bis 20 Gew.-% sonstige Bestandteile.

11. Schokomüsli, welches die folgende Zusammensetzung aufweist:

50 bis 70 Gew.-% Haferflocken und Nüsse

1 bis 40 Gew.-%, vorzugsweise 10 bis 20 Gew.-%, Schokolade-
komponenten, wobei diese zumindest 1 Gew.-% einer
probiotisch wirksamen Formulierung nach einem der
Ansprüche 1 bis 6 enthalten,

2 bis 15 Gew.-% Fruchtanteile

0 bis 10 Gew.-% Zucker und

0 bis 10 Gew.-% sonstige Bestandteile.

Recherchenbericht

Beilage zu GM 672/96

, Ihr Zeichen: G 143

Klassifikation des Antragsgegenstandes gemäß IPC⁶: A 23 L 1/03, 1/10, A 23 C 9/123

Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): A 23 L 1/00, A 23 C 9/00, A 23 G, A 23 P,
A 23 D, A 61 K 35/74

Konsultierte Online-Datenbank:

Die nachstehend genannten Druckschriften können in der Bibliothek des Österreichischen Patentamtes während der Öffnungszeiten (Montag bis Freitag von 8 - 14 Uhr) unentgeltlich eingesehen werden. Bei der von der Hochschülerschaft TU Wien Wirtschaftsbetriebe GmbH im Patentamt betriebenen Kopierstelle können schriftlich (auch per Fax. Nr. 0222 / 533 05 54) oder telefonisch (Tel. Nr. 0222 / 534 24 - 153) Kopien der ermittelten Veröffentlichungen bestellt werden.

Auf Anfrage gibt das Patentamt Teilrechtsfähigkeit (TRF) gegen Entgelt zu den im Recherchenbericht genannten Patentdokumenten allfällige veröffentlichte "Patentfamilien" (denselben Gegenstand betreffende Patentveröffentlichungen in anderen Ländern, die über eine gemeinsame Prioritätsanmeldung zusammenhängen) bekannt. Diesbezügliche Auskünfte erhalten Sie unter Telefonnummer 0222 / 534 24 - 132.

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung (Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich)	Betreffend Anspruch
X	EP 0 666 031 A2 (Barilla) 9. August 1995 (09.08.95) gesamtes Dokument ---	1-8
X	CH 684 774 A5 (M. Felchlin) 30. Dezember 1994 (30.12.94), gesamtes Dokument ---	1-8
A	DE 35 30 603 A1 (Zott KG) 5. März 1987 (05.03.87) gesamtes Dokument ---	1-11
A	Birk, Doris. Das grosse GU Vollwert Kochbuch, München: Gräfe und Unzer, 1989, Seiten 15-17 ---	9-11

☒ Fortsetzung siehe Folgeblatt

Kategorien der angeführten Dokumente (dient in Anlehnung an die Kategorien der Entgegenhaltungen bei EP- bzw. PCT-Recherchenberichten nur zur raschen Einordnung des ermittelten Stands der Technik, stellt keine Beurteilung der Erfindungseigenschaft dar):

"A" Veröffentlichung, die den **allgemeinen Stand der Technik** definiert.

"Y" Veröffentlichung von Bedeutung; die Erfindung kann nicht als neu (bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend) betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.

"X" Veröffentlichung von **besonderer Bedeutung**; die Erfindung kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu (bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend) betrachtet werden.

"P" zwischenveröffentlichtes Dokument von besonderer Bedeutung (älteres Recht)

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben **Patentfamilie** ist.

Ländercodes:

AT = Österreich; AU = Australien; CA = Kanada; CH = Schweiz; DD = ehem. DDR; DE = Deutschland;
EP = Europäisches Patentamt; FR = Frankreich; GB = Vereinigtes Königreich (UK); JP = Japan; RU = Russische Föderation; SU = Ehem. Sowjetunion; US = Vereinigte Staaten von Amerika (USA); WO = Veröffentlichung gem. PCT (WIPO/OMPI); weitere siehe WIPO-Appl. Codes.

~~Erläuterungen und sonstige Anmerkungen zur ermittelten Literatur siehe Rückseite!~~

Datum der Beendigung der Recherche: 26. Mai 1997

Bearbeiter/in:
Dipl.-Ing. Irmeler

Vordruck RE 31a - Recherchenbericht - 1000 - Zl.2258/Präs.95

ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT

AT 001 759 U1

A -1014 Wien, Kohlmarkt 8 - 10, Postfach 95
Tel.: 0222 / 534 24; Fax.: 0222 / 534 24 - 535; Telex.: 136847 OEPA A
Postscheckkonto Nr. 5.160.000; DVR: 0078018

Folgeblatt zum Recherchenbericht GM 672/96

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung (Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich)	Betreffend Anspruch
A	DE 39 05 055 A1 (Peter Eckes KG) 23. August 1990 (23.08.90), Patentansprüche und Beispiele -----	9-11
☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt		
Kategorien der angeführten Dokumente: (Dient in Anlehnung an EP- bzw. PCT-Recherchenberichte nur zur raschen Einordnung des ermittelten Stands der Technik und stellt keine Beurteilung der Erfindungseigenschaft dar.) "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. "Y" Veröffentlichung von Bedeutung; die Erfindung kann nicht als neu (bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend) betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nabehend ist. "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung ; die Erfindung kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu (bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend) betrachtet werden. "P" zwischenveröffentlichtes Dokument von besonderer Bedeutung (älteres Recht) "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist.		
Ländercodes: AT = Österreich; AU = Australien; CA = Kanada; CH = Schweiz; DD = ehem. DDR; DE = Deutschland; EP = Europäisches Patentamt; FR = Frankreich; GB = Vereinigtes Königreich (UK); JP = Japan; RU = Russische Föderation; SU = ehem. Sowjetunion; US = Vereinigte Staaten von Amerika (USA); WO = Veröffentlichung gemäß PCT (WIPO/OMPI); weitere siehe WIPO-Appl. Codes		