

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 716 553**

51 Int. Cl.:

A23L 3/3589 (2006.01)

A23L 3/40 (2006.01)

A23L 33/135 (2006.01)

B65D 81/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.09.2011 PCT/EP2011/066302**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2012 WO12038414**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2011 E 11764135 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2619007**

54 Título: **Producto que incluye bacterias del ácido láctico y un desecante**

30 Prioridad:

19.09.2011 US 201113200126
21.09.2010 US 403765 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.06.2019

73 Titular/es:

BIOGAIA AB (100.0%)
P.O. Box 3242
103 64 Stockholm, SE

72 Inventor/es:

SJÖBERG, ELISABETH

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 716 553 T3

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

DESCRIPCIÓN

Producto que incluye bacterias del ácido láctico y un desecante

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere de manera general al envasado de productos que son sensibles a la humedad y a la oxidación, prolongando por consiguiente la vida útil de tales productos. Más específicamente, esta invención se refiere a un método de prolongación de la vida útil de bacterias probióticas productoras de ácido láctico formuladas con aceite, usando una tecnología específica de absorción de humedad y de eliminación de oxígeno.

Antecedentes de la invención

Según la definición actualmente adoptada por la FAO/OMS, los probióticos son: “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped”. Hoy en día, se usan varias bacterias diferentes como probióticos, por ejemplo, bacterias productoras de ácido láctico tales como cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*. Las bacterias productoras de ácido láctico no solo se usan por su efecto beneficioso sobre la salud de animales o seres humanos, también se usan ampliamente en la industria alimentaria para procesos de fermentación. A menudo, los microorganismos comercializados para estos fines se formulan como polvos liofilizados en un entorno de bajo contenido de agua.

Un problema general encontrado en la aplicación de tales preparaciones de microorganismos liofilizados es la limitada estabilidad de almacenamiento de las células, ya que el contenido de agua libre disponible es perjudicial para las células. A lo largo del tiempo, los microorganismos se vuelven menos viables, dando como resultado la necesidad de altas dosificaciones para compensar esta pérdida de actividad, si hay suficientes organismos viables para hacerlo posible.

Con fines de almacenamiento, se conoce de manera general utilizar una lámina que tiene una capa de plástico en una superficie en el exterior del compartimento, tal como una lámina de aluminio laminada con polietileno como material de envasado para reducir la exposición a la humedad y al oxígeno de las bacterias de ácido láctico liofilizadas. Pero incluso cuando los materiales de barrera son eficaces restringiendo la transmisión de moléculas de agua a través de un envase, determinadas características del envase todavía pueden permitir la transmisión de moléculas de agua, por ejemplo, a lo largo de los bordes de un envase sellado con calor. Igualmente, el proceso de llenado del envase en sí mismo puede contribuir a retener agua dentro del envasado.

Una solución para mantener un nivel de humedad particularmente bajo dentro de un envase es incorporar bolsitas de material desecante en el espacio interior del envase para retirar la humedad del espacio libre superior del envase. Se conoce de manera general que el material desecante reduce el contenido de humedad dentro de un envase. Materiales desecantes típicos son los materiales desecantes “físicos”, tales como tamices moleculares que unen moléculas de agua en los espacios de poros de un material. Otro tipo de material desecante incluye agentes formadores de hidratos tales como sales, tales como cloruro de amonio. También pueden usarse materiales desecantes que no forman hidratos, tales como sal común (NaCl) o bromuro de potasio (KBr).

Otra manera de proteger los cultivos de bacterias del ácido láctico liofilizados es usar una formulación a base de aceite. Se han usado células de bacterias del ácido láctico en formulaciones en aceite para la estabilidad mejorada de las bacterias, véase por ejemplo la patente estadounidense n.º 4.518.696 de Gehrman *et al.* Los inventores de la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20050271641, considerada como la técnica anterior más cercana, dieron un paso más, añadiendo la etapa de secar a vacío el aceite antes de la formulación para la estabilidad mejorada de los cultivos de bacterias y se fabricó un producto llamado “Gotas Reuteri”. El producto es una formulación a base de aceite que contiene *L. reuteri* realizada para una buena estabilidad y vida útil. La característica única de este proceso de producción es una etapa de secado del aceite para retirar la mayor parte del agua. El aceite usado en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20050271641 es un aceite vegetal comestible puro, preferiblemente aceite de girasol. Aunque no se espera que un aceite tal como aceite puro de girasol contenga mucha agua, un efecto inesperado de la etapa de procesamiento de secar el aceite colocándolo a vacío es una estabilidad significativamente aumentada de los lactobacilos en la formulación.

Sin embargo, de vez en cuando todavía existe un problema con la estabilidad de las bacterias de ácido láctico formuladas en aceite, que pueden haber sido procesadas o no mediante vacío, ya que puede que no sea posible eliminar toda la humedad mediante vacío y/o puede entrar nueva humedad en la formulación de aceite durante el envasado o el almacenamiento en diferentes recipientes.

La invención descrita en el presente documento, proporciona afortunadamente un método mejorado y más eficaz para el almacenamiento de bacterias de ácido láctico liofilizadas combinando formulaciones a base de aceite que contienen bacterias de ácido láctico, por ejemplo descritas en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20050271641, y material polimérico absorbente de humedad descrito en la solicitud de patente EP1187874, la patente EP1121190 y la patente estadounidense n.º 6.174.952 o una lámina de envasado flexible polimérica plástica

de múltiples capas que tiene un material desecante químico incorporado en una capa de la lámina tal como se describe en la patente estadounidense n.º 8.003.179.

La descripción del material polimérico en los documentos de patente anteriormente mencionados, incluye procesos y estructuras resultantes para producir un polímero modificado que tiene canales comunicantes. Los canales comunicantes actúan como conductos de transmisión controlada a través del polímero. Se combina un agente hidrófilo en el polímero de modo que se distribuya por el polímero. Se combina un material absorbente de agua en el polímero de modo que el material absorbente de agua se distribuya por el producto. El producto se solidifica de modo que el agente hidrófilo forme conductos en el producto a través de los que la composición deseada puede transmitirse al material absorbente de agua que se arrastra dentro del producto. El producto solidificado descrito en los documentos de patente mencionados anteriormente puede usarse para formar un artículo con la forma deseada tal como revestimientos y piezas de tipo tapón para recipientes cerrados, o puede conformarse en una lámina, hoja, perla o gránulo. Un ejemplo de un producto de este tipo es Activ-Strip™ M-0026, (CSP Technologies, Auburn, EE.UU.), que es una película absorbente de humedad con tamiz molecular.

Sin embargo, a diferencia de la invención en el presente documento, nada en la técnica anterior, incluyendo los documentos de patente mencionados anteriormente, mencionan la absorción de humedad de un líquido no acuoso, incluyendo aceite, usando un material absorbente de humedad específico, tal como tiras o láminas de polímero especialmente preparadas que tienen un material desecante químico incorporado. Por el contrario, queda claro a partir de, por ejemplo, el documento EP1187874 que esta tecnología está destinada a la conducción de un gas a través del polímero.

Por tanto, se conocía previamente que la estabilidad de cultivos probióticos productores de ácido está estrechamente correlacionada con la actividad de agua de la formulación, también se conocía el secado de aceite a vacío para la estabilización de lactobacilos. Fue una sorpresa cuando el inventor de la invención en el presente documento mostró que usando material desecante específico incorporado en una estructura polimérica específica junto con *L. reuteri* formulada en aceite mejoró considerablemente la estabilidad de tales cultivos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al envasado de productos que son sensibles a la humedad y a la oxidación, prolongando por consiguiente la vida útil de un producto de este tipo.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un método mejorado para el almacenamiento de bacterias de ácido láctico liofilizadas formuladas en aceite.

La solución se proporciona en el método de la reivindicación 1. En las reivindicaciones 2-4 se definen realizaciones adicionales de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el resultado de un estudio de estabilidad con la invención en el presente documento. Muestra el contenido de agua en un producto con *Lactobacillus reuteri* formulado en aceite, con la película desecante Active-Tira™ M-0026. El producto de referencia no contiene ninguna película desecante. La figura 2 es una figura que muestra el resultado de otro estudio de estabilidad como en la figura 1.

Descripción detallada de la invención y realizaciones preferidas de la misma

El objeto general de la presente invención es usar material absorbente de humedad específico, tal como tiras o láminas de polímero especialmente preparadas que tienen un material desecante químico incorporado en un envase para el almacenamiento de bacterias de ácido láctico liofilizadas formuladas con aceite. El material absorbente de humedad debe usarse en el envasado de tal manera que sólo está en contacto directo con el aceite que contiene las bacterias de ácido láctico liofilizadas y de ese modo puede absorber la posible agua del aceite.

El material absorbente de humedad específico también puede usarse para revestir internamente un recipiente usado para el almacenamiento de bacterias de ácido láctico liofilizadas formuladas con aceite.

La presente invención se refiere a un método de prolongación de la vida útil de productos sensibles a la humedad y la oxidación, tal como *Lactobacillus reuteri* formulada en aceite o aceite secado a vacío usando una película desecante específica (Activ-Strip™ M-0026, CSP Technologies, Auburn, EE.UU.) o una película con un material desecante incorporado (tal como se describe en la patente estadounidense n.º 8.003.179, por ejemplo PET12PE/ALU 12/PE/PE+desecante/PE de Alcan).

Se realizó un estudio de estabilidad para investigar cómo una película absorbente de humedad (Activ-Strip™ M-0026, CSP Technologies, Auburn, EE.UU.) proporcionada por CSP Technologies influye en la viabilidad de *L. reuteri* formulada con aceite. El método de prueba usado en el estudio de estabilidad para la determinación de agua es

ASTM D6304 - 07, que es un método de prueba convencional para la determinación de agua en productos del petróleo, aceites lubricantes y aditivos mediante valoración de Karl-Fischer colorimétrica.

Ejemplo 1 – Fabricación de un producto liofilizado que contiene *L. reuteri* formulado en aceite

- 5 Mezclado de componentes.
1. Mezclar el triglicérido de cadena media (por ejemplo, Akomed R, (Karlshamns A B, Karlshamn Suecia)) y aceite de girasol (por ejemplo, Akosun, Karlshamns) con dióxido de silicio, (Cab-o-sil M5P, M5P, Cabot) en una máquina/un
- 10 tanque de mezclado Bolz (Alfred BOLZ Apparatebau GmbH, Wangen im Allgu, Alemania)
2. Homogenización. Se conectan una bomba Sine y un dispositivo Dispax (bomba Sine, Arvada, Colo.) a la mezcladora Bolz y se homogeneiza la mezcla.
- 15 3. Añadir *Lactobacillus reuteri*. Se colocan aproximadamente 20 kg de mezcla de aceite seco en un vaso de acero inoxidable de 50 litros. Polvo de *L. reuteri* (preferiblemente liofilizado; la cantidad de *L. reuteri* usada varía dependiendo de la cantidad buscada en el aceite. Un ejemplo es añadir 0,2 kg de cultivo que tiene 10^{11} UFC por g). Se mezcla lentamente hasta que se homogeneiza.
- 20 4. Mezclado. El mezclado previo con *L. reuteri* se devuelve a la mezcladora Bolz.
5. Descarga. La suspensión se descarga a un vaso de 200 litros y se cubre con nitrógeno. La suspensión se mantiene en el vaso hasta el llenado en frascos de vidrio de 5 ml.
- 25 6. Se añade en cada frasco una tira Activ-Strip™ M-0026 de 20 mm, 0,6 mm de grosor y 15 mm de anchura, (CSP Technologies, Auburn, EE.UU.).

Ejemplo 2 - Estudio de estabilidad con *L. reuteri* DSM 17938 liofilizada formulada en aceite con tiras Activ-Strips™ M-0026

- 30 Se almacenaron los frascos del ejemplo 1 en cámaras climatizadas a 25°C/60% HR y 30°C/65% HR respectivamente en BioGaia, Lund, Suecia.
- 35 El 12 de diciembre de 2009, se inició un estudio que mostraba claramente que el contenido de agua en los frascos del ejemplo 1 es notablemente menor que en el frasco de referencia sin tira desecante; esto se asocia con un producto más estable. Para los resultados del estudio véase la figura 1.
- 40 Otro estudio de estabilidad realizado como en el caso anterior, pero con otro lote de *L. reuteri*, verifica los resultados, mostrando que el contenido de agua es menor en los frascos que contienen una tira desecante. Para los resultados del estudio véase la figura 2.
- 45 La presente invención no está limitada a las realizaciones preferidas descritas anteriormente. Pueden usarse diversas alternativas, modificaciones y equivalentes. Por tanto, las realizaciones anteriores no deben tomarse como limitativas del alcance de la invención, que se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Método de prolongación de la estabilidad de bacterias productoras de ácido láctico en un aceite, que comprende:
- 5
- a) añadir las bacterias productoras de ácido láctico a un aceite y mezclar lentamente para formar una suspensión homogénea;
 - b) dispensar la suspensión homogénea a un frasco; y
 - c) colocar una tira de un polímero desecante o una película desecante en contacto directo con la suspensión homogénea en dicho frasco antes de sellar el frasco.
- 10
2. Método según la reivindicación 1, en el que las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Lactobacillus reuteri*.
- 15
3. Método según la reivindicación 2, en el que las bacterias *Lactobacillus reuteri* están en forma de polvo liofilizado.
4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la tira tiene 0,2 - 5 mm de grosor y 5 - 25 mm de ancho, tal como 0,6 mm de grosor y 15 mm de ancho.
- 20

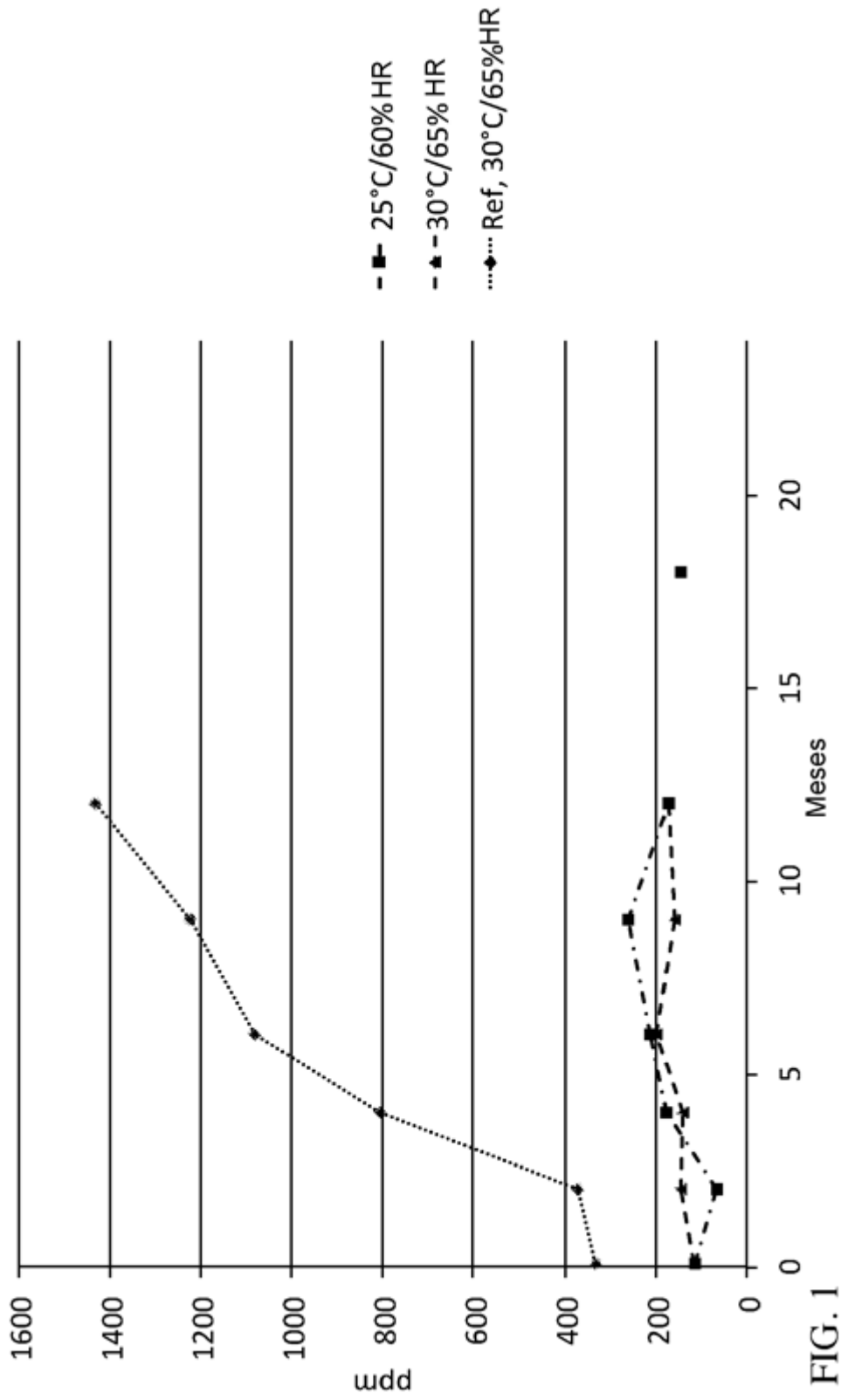


FIG. 1

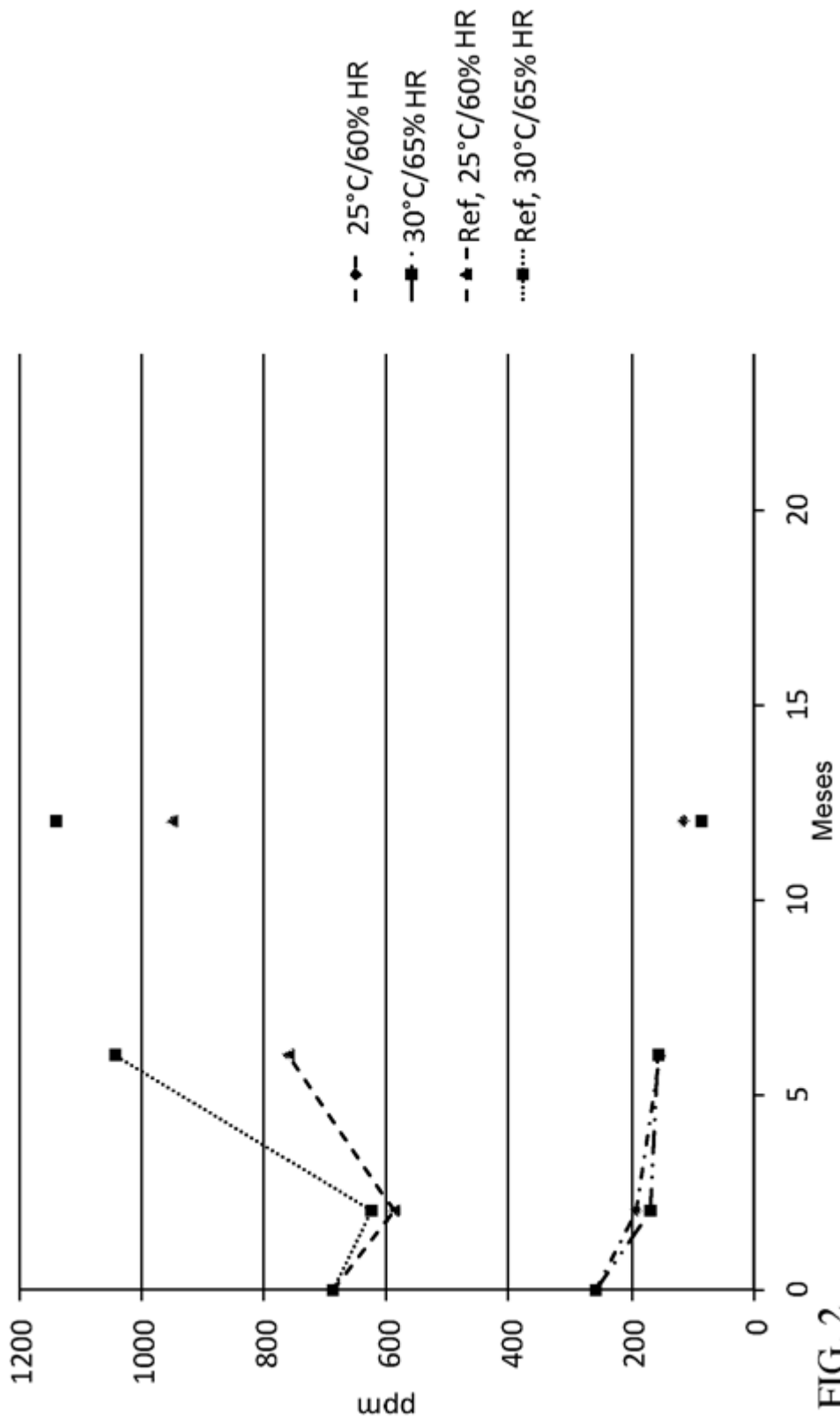


FIG. 2