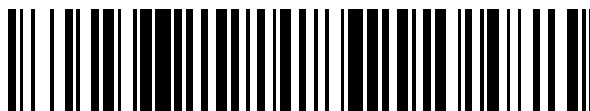


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 719 096**

51 Int. Cl.:

A23L 33/10 (2006.01)
A23L 33/135 (2006.01)
A23L 29/244 (2006.01)
A23L 29/30 (2006.01)
A23L 33/125 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 1/16 (2006.01)
A23L 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2008 PCT/MX2008/000159**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.05.2010 WO10059022**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2008 E 08878299 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 2347661**

54 Título: **Método para obtener una mezcla de probióticos, prebióticos nutrientes con acción simbiótica sinérgica**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.07.2019

73 Titular/es:

CRUZ SERRANO, JOSÉ ANTONIO (100.0%)
Carretera a San Martín 28 Col. Lomas del Verde
C.P. 45625 El Salto
Jalisco , MX

72 Inventor/es:

CRUZ SERRANO, JOSÉ ANTONIO

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 719 096 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

Método para obtener una mezcla de probióticos, prebióticos nutrientes con acción simbiótica sinérgica

Campo técnico

5 La presente invención tiene su campo técnico en el área biotecnológica, ya que proporciona un método para la obtención de una mezcla de probióticos, prebióticos y nutrientes capaz de mantenerse en simbiosis sinérgica biológicamente viva y activa.

Generándose un medio de transmisión de nutrientes con una carga de probióticos y prebióticos en sinergia simbiótica que por sus novedosas características lo hacen superior a los encontrados en el estado de la técnica.

Objetivo de la invención

10 El Objeto de la presente invención es producir una mezcla que permita la acción simbiótica entre diferentes cepas de probióticos y prebióticos, asegurando que los prebióticos sean reconocidos por los probióticos para poderse beneficiar de ellos, logrando así dos condiciones, la primera es mantener vivas y activas a las cepas probióticas y la segunda es lograr en las cepas probióticas su reproducción bajo las condiciones biofísicas y bioquímicas de temperatura, presión osmótica y pH. Con ello, se tendrá una simbiosis que logre sinergia ante la presencia de nutrientes los cuales pueden
15 provenir de los tres grupos funcionales principales proteínas, carbohidratos o bien lípidos. La presente mezcla biológica tiene características simbiótico-sinérgicas, y es capaz de poderse integrar en alimentos, tanto primarios como procesados y productos para el cuidado de la salud como cremas y ungüentos. Esto permite la óptima absorción de nutrientes por parte de la digestión humana o bien al contacto tópico con diferentes partes de la piel. (No restringiendo su efectividad a aplicaciones veterinarias también). Es importante aclarar que las aplicaciones en materia alimentaria no se restringen a alimentos de base diaria.
20

Antecedentes

La patente RU 2,229,251 describe un método el cual consiste en la preparación de la solución de un polímero natural seleccionado del grupo de las gelatinas, agar, pectina, mediante la mezcla de dicho polímero con agua de buffer o
25 leche; calentándolo a una temperatura de entre 40-90 °C, la mezcla resultante de la solución de polímero natural se mezcla con las células de biomasa de al menos una cepa prebiótica, que ha acumulado metabolitos en la forma de componentes prebióticos en el proceso de cultivo, introduciendo componentes adicionales prebióticos mientras se mezcla continuamente la solución; se forma una mezcla resultante derivada de suministrar al contenedor o recipiente éstos, se deja enfriar para obtener una composición solidificada termotrópica en forma de gel con una distribución uniforme de los componentes usados en las siguientes proporciones, WT%: 0.9-2.7 polímero natural, componentes
30 células de biomasa prebiótica 0.75 - 3.5 (peso seco); componentes prebiótico hasta 4: agua, buffer acuoso o leche hasta 100. La cantidad de células probióticas vitales de manera preparada inmovilizada en la composición de $10^8 - 10^9$ cfu's/g, la máxima tensión de rotura Pa 1050-1500, el contenido de humedad 64-78% y el valor de pH es 3.7-6.2. Se le pueden aplicar diversos tipos de sabores, aditivos y componentes, tales como carne, pescado, embutidos, frutas y verduras que se pueden introducir durante la preparación de los alimentos, obteniendo un efecto de alimento funcional con propiedades probióticas dándole mayor calidad al alimento.
35

Las solicitudes de patente WO 2006/039768, WO 2008/056983, WO 2007/126990, US 2007/104700, WO 2007/079147, WO 2007/125558, US 2006/141097, US 2007/009502, EP 0 856 259 describen cada mezcla de probióticos con prebióticos, así como los procesos para fabricar dichas mezclas.

40 Las tecnologías que actualmente existen, mencionan sinergia al simple hecho de presencia de una cepa probiótica y un prebiótico en un sustrato el cual puede ser de hecho el alimento mismo, cuando estas tecnologías cuentan con el prebiótico liofilizado, mantienen a la bacteria benéfica viva mas no activa, esto resta efectividad a la colonización y efecto benéfico pues debemos recordar que los probióticos se encuentran en todo el tracto digestivo de boca a ano, así cepas liofilizadas inician su re-activación cuando entran en contacto con la humedad de la saliva en la boca, por lo que
45 muchas veces las 4 horas que tarda en llegar al primer tercio del intestino delgado no le son suficientes para activarse plenamente y poder anclarse en la mucosa que existe en las vellosidades capilares del intestino delgado, perdiéndose su función metabólica en la digestión de los alimentos.

Las simbiosis que llevan a los probióticos vivos y activos actualmente son preferente mente lácteos ya sea yogures o bien leches fermentadas, siendo bacterias ácido lácticas, el medio lácteo no representa el mejor medio de sustentabilidad pues el pH es alrededor de 7 aunado a esto en medios lácteos con bajas viscosidades se encuentra el
50 problema de presión osmótica sobre las bacterias, lo que hace que mueran a efectos de plasmólisis o bien turgescencia, es importante tomar en cuenta que la membrana de los probióticos es permeable y debe cumplirse una isotonicidad en la solución que las contenga y de la cual se logren alimentar.

Todo esto aunado al hecho de que una vez inoculados los probióticos aun con la presencia del prebiótico, no es posible que esa mezcla logre ser inoculada en otro alimento ya sea primario o bien procesado y mantener a las bacterias vivas y activas, a fin de lograr formatos diversos en alimentos varios y mantener el efecto benéfico de las simbiosis.

- 5 Las tecnologías existentes no logran una simbiosis sinérgica que funcione como un microprocesador biológico que logre generar respuestas para modular funciones orgánicas en el cuerpo, lo que representarla un verdadero alimento funcional.

Descripción detallada de la invención

- 10 Los detalles característicos de este método para obtener una mezcla de probióticos y prebióticos con acción simbiótica sinérgica se muestran claramente en la siguiente descripción.

15 El proceso que se describe a continuación requiere por su naturaleza biológica de un ambiente de alta sanidad, con control de plagas de acuerdo a lo que cita el pre-requisito operativo 5, plan de control de desinsectación y desratización del estándar ISO 22000, aplicable al plan "Haccp" para industria alimentaria y calidad de aire al menos clase 10,000 de acuerdo a los estándares de la industria de alimentos y farmacéutica USP 797, ISO "designation 7". Ambiente con aire a presión positiva y acción recomendada de una nebulización continua de formaldehído en agua al 37% a fin de lograr un ambiente limpio que evite una contaminación no deseada de bacterias patógenas. Así mismo se completa el aseguramiento de la inocuidad del ambiente, nebulizando fungicidas los cuales pueden ser los comercialmente convencionales que eliminan levaduras y hongos, la combinación de ambos es requerida. Esta condición debe mantenerse durante absolutamente todo el proceso a continuación descrito.

- 20 Se parte de la presencia de cepas probióticas liofilizadas las cuales han sido almacenadas a temperaturas que van de -10 y +17 °C en un empaque preferentemente no traslucido y bien sellado, a fin de evitar contaminación alguna.

Dichas cepas probióticas son:

	Lactobacillus	Bifidus	Streptococos	Levaduras
	<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>S. sanguis</i>	D-glucanos
25				β1,3/β1,6
	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>S. Bovis</i>	
	<i>L. paracasei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>S. Cremorisir</i>	
	<i>L. rauteri</i>	<i>B. bacterium</i>	<i>S. Thermophilus</i>	
	<i>L. lactis</i>	<i>B. Lactis</i>	<i>S. gallalytius</i>	
30	<i>L. Fermentum</i>	<i>B. animalis</i>		
	<i>L. gasseri</i>	<i>B. suis</i>		
	<i>L. jahnsonii</i>	<i>B. longum</i>		
	<i>L. acidophilus</i>			
	<i>L. cripanus</i>			
35	<i>L. amylovorus</i>			
	<i>L. delbrueckii</i>			
	<i>L. bulgaricas</i>			

- 40 El empaque con los probióticos se debe sacar de refrigeración, por lo menos 20 minutos antes de su primera manipulación, siendo sugerido una franja preferente pero no restrictiva de entre 30 minutos a 3 horas, este periodo permitirá que el empaque y las cepas probióticas liofilizadas puedan desenfriarse y lograr una temperatura que este dentro del rango de 17 a 27 °C.

De forma paralela al acondicionamiento de la cepa probiótica se prepara una mezcla prebiótica:

Dicha mezcla prebiótica tiene una base de agua de grado potable para humanos, (libre de agentes patógenos) la cual se calienta a una temperatura que está en un rango de 25 a 100 °C, entre más caliente el agua, mejor serán la solución de los ingredientes que deberemos mezclar. Una vez el agua caliente se adiciona el prebiótico (inulina), la cual se constituye fundamentalmente de fructanos provenientes de chicoria, agave, enula, batata, alcachofa, espárrago, patata de Jerusalén, yacón, puerro, ajo común y diente de león.

Es importante mencionar que para ser clasificada la inulina como un verdadero prebiótico debe cubrir tres condiciones fundamentales.

1. Selectividad, esto refiere al hecho de que solo provea a las bacterias probióticas y no a las aerobias o patógenas.
2. Que las cadenas sean suficientemente cortas para que por vibración y presión osmótica el prebiótico se logre alimentar de ellas.
3. No absorción a nivel de vellosidad intestinal por el anfitrión (humano) la proporción va de 1:1 a 1:0.1, es decir por cada litro de agua adicionar 1.0 kg de prebiótico, o por cada litro de agua adicionar solo 100 g de prebiótico. Se debe batir de forma mecánica con una velocidad en un rango de 10 a 150 rpm. a fin de que la base prebiótica no genere apelmazamientos o grumos y permita su integración con la base de agua hasta formar un líquido totalmente homogéneo.

Una vez lograda la primera mezcla prebiótica, se calienta a no menos de 20 °C y a no más de 100 °C. Siempre evitando hidrolizar la inulina pues las propiedades prebióticas se mermarían, dado que las cadenas de fructanos perderían valor energético en Kcal como alimento de los probióticos. Luego se toma un carbohidrato simple el cual, por su alta biodisponibilidad, se recomienda sea glucosa, o puede ser también carbohidratos como palatinosa, azúcar o estevia.

Se vierte el carbohidrato simple en la mezcla prebiótica y por acción mecánica de agitación no menor a 10 rpm se van integrando hasta formar una nueva mezcla acuosa homogénea, la proporción de carbohidratos simple recomendado aquí es la misma que la del prebiótico, es decir de 1:1 a 1:0.1 Prebiótico:Carbohidrato simple.

Es importante en ambas mezclas se cuide la concentración de sólidos, por lo que deberá cuidarse la interacción de tres factores:

1. Temperatura, directamente proporcional a una solubilidad de los ingredientes entre más alta mayor solubilidad.
2. Acción mecánica de agitación, directamente proporcional a una mayor velocidad de agitación en revoluciones por minuto o batidas por minuto (agitación lineal o circular) mayor será la solubilidad.
3. Adición de prebiótico y carbohidratos simples, inversamente proporcional a mayor cantidad de estos dos elementos en la base de agua o agua más prebiótico menor será la solubilidad. Las Mezclas de esta técnica puede generar coeficientes de agua en un rango de 10 a 99%, pasando de una mezcla pastosa semi sólida a una sumamente líquida.

Es importante que se logre con el balanceo de los elementos y las condiciones de proceso arriba descritas una mezcla semi sólida o bien líquida perfectamente bien homogénea.

El siguiente elemento a añadir son aminos, las cuales al integrarse favorecerán la sustentabilidad de los probióticos vivos, (Lactobacillus, Bifidus, Streptococos y Levaduras) hay diferentes cepas probióticas que requieren diferentes tipos de aminos para favorecer su ciclo vital, como una base se recomienda una mezcla vitaminada que por cada 1.0 kg este compuesta por:

No.	Ingrediente	Cantidad	Unidades
1	Vitamina E acetato	78,000	UI
2	Clorhidrato de piridoxina	15.6	gr.
3	Ácido fólico	1.62	gr.
4	Vitamina B-12	15.6	mg.
5	Ácido ascórbico	540.0	gr.

Opcionalmente se puede adicionar a esta mezcla vitaminada proteína o incluso agares, como pectina, grenetina y agar-agar, las cuales se adicionan en proporciones dentro de la mezcla final que están en el rango de 0.3 a 7%, esto generara una mayor viscosidad en la mezcla lo que permite un efecto de regulación en cuanto a presión osmótica en la bacteria evitando así plasmólisis o turgescencia, la proteína o agar hace una función de regulación en la cantidad de agua de la solución a fin de evitar daño en la membrana por presión osmótica.

La mezcla integrada hasta este punto lleva dos condiciones: cantidad de mezcla y nivel de pH. Se requiere una adición de no más de 5.0 g de pre-mezcla vitaminada por cada litro de mezcla total y su integración debe cuidarse en lo que a alteración de pH refiere, el pH óptimo para sustentabilidad probiótica tiene un rango de 3.5 a 6.8, nuevamente dependiendo de la cepa, adicione la mezcla sólida de aminos y con ayuda de un medidor de pH asegure el pH que la bibliografía de la cepa probiótica le requiera, luego intégreala mediante agitación al menos 10 rpm o batidas por minuto, hasta lograr una mezcla perfectamente homogénea.

Esta mezcla que es un "caldo de cultivo", está lista ahora, e idealmente debe tener una viscosidad de 0.0100 poises con un rango de 0,0500 a 0.0050 poises a 20 °C.

Esta mezcla, hecha bajo las condiciones de sanidad que se describen en esta técnica, es poco susceptible a la contaminación de bacterias patógenas, sin embargo, es opcional en los casos donde no se cuente con estas condiciones de sanidad satisfactorias el poder pasteurizar este "caldo de cultivo", previo a la inoculación probiótica. A continuación, se muestra una tabla con los procesos sugeridos, más no restrictivos para este paso opcional, en función de la inocuidad del ambiente donde se trabaje. La pasteurización evita interferencia biológica con microorganismos no deseados, esto es debido a la competencia que por el alimento se hará en el medio libre de otros microorganismos los probióticos no tendrán problema para alimentarse favoreciendo así su viabilidad, duración y capacidad de reproducción y fermentación.

Tabla de Pasteurización para bacterias patógenas.

<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Tipo de Pasteurización</i>
63 °C (145 °F)	30 minutos	Pasteurización VAT
72 °C (161 °F)	15 segundos	Pasteurización (HTST)
89 °C (191 °F) (UP)	1.0 segundos	Ultra Pasteurización
90 °C (194 °F) (UP)	0.5 segundos	Ultra Pasteurización
94 °C (201 °F) (UP)	0.1 segundos	Ultra Pasteurización
96 °C (204 °F) (UP)	0.05 segundos	Ultra Pasteurización
100 °C (212 °F) (UP)	0.01 segundos	Ultra Pasteurización
138 °C (280 °F)	2.0 segundos	Esterilización (UHT)

Los probióticos vienen, normalmente en concentraciones de polvo liofilizado, en probióticos comerciales, que oscila entre los 0.5 a los 4.0 billones 1×10^{11} UCF's.

5 Se debe preparar un recipiente, perfectamente limpio. Se calienta agua de 15 a 60 °C siendo preferente los 37.5 °C de forma dosificada y alternada se vierte sobre el recipiente limpio, el polvo liofilizado y el agua caliente, cuidando que la adición sea lenta, pues la desliofilización no es inmediata, los probióticos liofilizados tardan unos segundos en absorber el agua adicionada, se debe evitar tanto como sea posible los apelmazamientos, la relación recomendada aquí de polvo liofilizado probiótico y agua caliente esta en el rango siguiente 1:1, 1:10, es decir por cada gramo de probióticos liofilizados adicionar un mililitro de agua caliente o hasta por cada gramo de polvo liofilizado agregar diez mililitros de agua caliente, esto dependerá de la concentración que se desee y de la solubilidad del polvo liofilizado en el agua.

10 La acción correcta específica es verter el polvo liofilizado probiótico en un tazón donde se esparce lo más ampliamente posible dicho polvo y luego con una jeringa inyectar lentamente agua rociada sobre los probióticos liofilizados dejando que se humedezcan absorbiendo el agua que se proporciona lentamente, la hidratación puede ser mortal para los probióticos si no se hace de forma controlada como se describe en esta técnica, pues la membrana permeable, como ya se mencionó, obedece a las fuerzas físicas de presión osmótica por lo que el agua entra y sale de la membrana del microorganismo si no se hace de una manera controlada según la técnica y los rangos se puede caer en rangos de presión tanto en plasmólisis (presión negativa dentro del microorganismo e implosión) o bien turgescencia y sobrellenar de agua al probiótico y literalmente explotarla.

15 *NOTA 1.* La membrana celular que cubre a los probióticos normalmente es altamente sensible a la acción mecánica brusca y presión osmótica que el agua proporciona en la mezcla, con lo que muere el microorganismo si se agita violentamente; evite mezcla mecánica.

20 *NOTA 2.* A más de 60 °C los probióticos por lo general mueren.

25 De ser necesario, para lograr una mejor integración de la mezcla probiótica ya en desliofilización con el agua, viértala de forma lenta y suave, de la boca de un recipiente a otro por pocas repeticiones hasta dejar la mezcla lo más integrada posible, esto se logra en el punto en que no hay polvo sólido sobre o dentro de la mezcla acuosa de probióticos liofilizados, luego se deja reposar la mezcla probiótica al menos durante 5 minutos este tiempo de reposo asegura una absorción óptima del agua proporcionada y por otra parte no deja tiempo a que los probióticos requieran de energía sin que exista presencia de carbohidrato para alimentarlos.

30 *NOTA 3:* Si se calienta la mezcla de probióticos o el polvo liofilizado de probióticos en el microondas tenga cuidado con las temperaturas que se alcanzan debido a que los probióticos no suelen sobrevivir a la acción de temperaturas por encima de los 60 °C esto es por la irregularidad con que los gradientes de temperatura se desplazan dentro de un horno de microondas y la posibilidad de que ciertas zonas, de forma no controlada, se sobre calienten arriba de los 60 °C mientras que la temperatura promedio en el horno sea inferior a 50 °C.

Caliente la mezcla (agua, prebiótico, carbohidratos simple y aminos), hasta alcanzar una temperatura de 37.5 °C.

35 Acondicionar un recipiente no traslucido de cierre hermético, de plástico preferentemente, sin que sea restrictivo el metal en aleaciones grado alimenticio o quirúrgico para proteger la fotosensibilidad, la cual es la sensibilidad que tienen los probióticos a la acción de la luz, esta puede llegar a afectar su viabilidad, recordemos que el ideal es oscuridad total que es como de hecho viven en el tracto gastro intestinal en el anfitrión (humano).

40 Manteniendo la temperatura de la mezcla probiótica en una franja que va de 27 a 42 °C, preferenciando desviaciones estándares de no más de 4 °C.

Para evitar los inconvenientes de la mezcla por acción mecánica brusca y presión osmótica, se vierte dicha mezcla en un recipiente y se vacía en otro recipiente de boca a boca, repitiendo esta operación varias veces. Luego se vierte lentamente la mezcla prebiótica y la mezcla probiótica en un recipiente no traslucido de cierre hermético, recuerde que la membrana de los probióticos es altamente sensible y movimientos bruscos la destruyen matando al probiótico.

45 Si se requiere una integración mayor por detección de grumo, vierta la unión de las mezclas prebiótica y probiótica de un recipiente unas pocas veces de forma lenta, y a una distancia (boca a boca de recipiente preferentemente sin remezclar) no muy alta de un recipiente a otro a fin de evitar una caída de mezcla líquida violenta de un recipiente a otro.

Una vez integrada esta mezcla simbiótica-sinérgica, cierre el envase que los contiene y llévelo a una estufa del laboratorio, déjelo en incubación al menos 24 horas a 37.5 +/- 20% °C esto debe generar condiciones de reproducción de

los probióticos, pues la primera fragmentación normalmente ocurre entre 24 y 48 horas cuando las condiciones de pH y temperatura sean adecuadas.

5 Esta ya es una mezcla biológica simbiótica sinérgica, pero carece de la presencia de un nutriente, pues las aminos adicionadas son para la sustentabilidad de los probióticos no para el humano que haga consumo o uso del producto terminado. Los nutrientes para consumo humano que se adicionan son: proteínas de origen animal o vegetal, con o sin la presencia de los nueve aminoácidos esenciales, lípidos preferiblemente los de cadena corta, omegas y carbohidratos también de cadena corta para la liberación de energía en metabolizaciones simples.

La acción funcional de la mezcla, (modulación de una función orgánica en cuerpo humano), se recomienda en las siguientes concentraciones mínimas:

10 Probióticos al menos 1×10^6 UCF's por gramo de mezcla simbiótica sinérgica Prebióticos al menos 2.0 g por porción u aplicación.

Nutrientes dentro de los estándares internacionales de ingesta diaria recomendada para consumo humano sano.

La acción funcional de la mezcla será efectiva bajo las restricciones siguientes:

15 a. En alimentos, si se fríe el alimento funcional, los probióticos mueren.
b. En alimentos, si se cocinan a más de 60 °C los probióticos mueren.
c. Dado que los probióticos están vivos y activos es necesario el almacenamiento en cadena fría, entre 5 y 14 °C, cuando los porcentajes de agua sean elevados, mas de 50%, pues las bacterias iniciaran ciclo de segregación de ácidos, enzimas y reproducción a medida que más se acerquen a 37 °C, Lo que alterará el color y sabor de los alimentos.

20 A continuación, se describen algunos ejemplos de mezcla de probióticos y prebióticos con acción simbiótica sinérgica aplicada en alimentos.

Ejemplo1.- Método para obtener pastel de chocolate simbiótico sinérgico con antioxidantes.

1.- Precalear el horno a 120 °C.

25 2. - Untar mantequilla generosamente a un molde, hasta formar una fina costra.

3. - Espolvorear la harina de trigo en el molde, con la mantequilla como costra.

4. - Pesar los ingredientes:

A) 485 g de azúcar con 260 g de inulinas,

B) 400 g de nuez molida,

30 C) 350 g de galleta maría molida.

5.- Romper en pequeños trozos 420 g de barras de chocolate y ponerlos a baño María a 50 °C.

6.- Batir 450 g de mantequilla en un molde hasta que hagan "ojos" o "listones".

7.- Adicionar la mezcla de inulinas la cual está compuesta de *agave wuebber tequilana azul*, azúcar y batir hasta homogenizar.

35 8. - Incorporar 15 yemas de huevo de una en una mientras se bate.

9.- Batir las 15 claras a punto de nieve.

10.- Añadir:

350 g de galletas molidas,

357 g de chocolate (85 % del total),

40 360 g de nueces (90% del total),

1 g de café descafeinado.

11.- Envolver claras de huevo a punto de nieve.

12.- Vaciar en molde.

13.- Hornear durante 30 minutos.

5 14.- Verificar el grado de cocción con un cuchillo debe salir seco.

15.- Preparar cobertura

Chocolate 63 g,

Nuez 40 g.

16.- Añadir 55 g de mezcla simbiótica sinérgica compuesta por:

10 20 g de inulina de *agave webbere tequilana azul*

10 g de Nutricran 90 (90%, polvo de arándano como antioxidantes)

1 x 10 a la 12 CFU's de mezcla probiótica con la siguiente proporción:

Lactobacillus acidophilus 40%,

Bifidus bacterim 40%,

15 Levadura D-glucanos 20%.

17.- Fundir chocolate y mezclar las nueces a 35 °C.

En un recipiente metálico, batiendo manualmente con una espumadera de madera o metálica el chocolate fundido, de forma dosificada integre la mezcla simbiótica sinérgica dejando fluir lentamente del recipiente que lo contiene al recipiente donde se encuentra el chocolate. Conforme vaya vertiendo la mezcla simbiótica sinérgica incorpore al chocolate fundido batiéndolo manualmente hasta hacer una sola masa.

20

18.- Mantener la temperatura a 30 +/- 2 °C.

19.- Voltar el pastel caliente.

20.- Recubrir el pastel con chocolate, nuez y mezcla simbiótica sinérgica.

21.- Cortar el pastel y empaquetar en porciones de 50g.

25

Ejemplo 2.- Gel simbiótico sinérgico con omega 3

Prepare las siguientes mezclas sólidas:

1.- Mezcla sólida Prebiótica

Inulinas 101 g

30 2.- Mezcla sólida Proteica

Grenetina 24 g

G. Xantato 2 g

3.- Mezcla sólida Omega 3

Omega 3 37.5 g

35 Ácido cítrico 2 g

Ácido Málico 0.5 g

Complemento vitamínico 3.3 g

Batir las mezclas con los líquidos indicados a una temperatura de 65 °C.

Marmita Jarabe

5 Agua 206.441 g

Mezcla sólida Prebiótica 101 g

Glucosa 121.334 g

Adicionar al jarabe hecho en el paso anterior la mezcla proteica.

Mantenga la temperatura entre 50 y 60 °C en la batidora.

10 Deberá iniciar a espesar sin llegar a emulsionarse.

Batir durante 10 minutos.

Añadir la mezcla sólida de omega 3 más ácidos.

Mantenga batiendo por otros 5 minutos a no menos de 45 °C.

Si lo desea agregue algún saborizante en un volumen de 2 ml.

15 También puede adicionar colorantes si lo desea en una cantidad de 2 g.

Una vez incorporada toda la mezcla deje reposar 5 minutos.

Tome la temperatura asegurando un rango entre 38 a 42 °C.

20 La mezcla semi líquida deberá ser inoculada vertiendo lentamente la mezcla simbiótica sinérgica de 100 g *Lactobacilos rhamnosos* 40% y *bifidus longum* 60% con inulina de achicoria y vitaminas B12, teniendo una concentración de 1×10^8 a 10^9 CFU's de combinación probiótica, 25 g de inulina de achicoria y 25 g de vitamina B12.

Para unir la mezcla simbiótica sinérgica al gel semi líquido vierta en un tercer recipiente de 1 litro. Al mismo tiempo boca a boca de recipientes por un lado el Gel semi líquido y por otro la mezcla simbiótica sinérgica, deje que se incorpore sin agitación alguna, que repose al menos 10 minutos.

Proceda a empaquetar.

25

Ejemplo 3.- Té verde simbiótico sinérgico con

1.- Preparar la siguiente lista de ingredientes:

Agua purificada 800 l,

Alta fructuosa 190 g,

30 Ácido cítrico 3 g,

Ácido málico 1 g,

Esencia de té verde 5 g,

Mentol 1 g.

2. - Calentar el agua purificada hasta alcanzar una temperatura entre 40 y 65 °C.

35 3. - Adicionar el alta fructuosa a el agua caliente mediante una agitación mecánica entre 50 a 300 rpm.

- 4.- Mezclar al menos durante 5 minutos a fin de poder incorporar un jarabe homogéneo. (Manteniendo la temperatura en el rango mencionado).
- 5.- Adicionar una pre-mezcla de ácidos compuesta por el cítrico y mélico, mantenga las mismas revoluciones que utilizo para hacer el jarabe, mientras integra los ácidos. (Asegure de mantener una temperatura entre 37 a 40 °C).
- 5 6.- Añada la esencia de té verde mientras mantiene las revoluciones de los puntos anteriores por un tiempo de 5 minutos. Finalmente a una a una velocidad de 50 a solamente 80 rpm.
- 7.- Añadir el mentol a la misma temperatura del punto anterior.
- 8.- Ya tendríamos un té verde como una bebida procesada normalmente.
- 9.- Tome 100 ml de mezcla simbiótica sinérgica con una concentración como se describe
- 10 *Bifidus Infantis* 1 x 10 a 7 CFU's/g,
Streptococo termophilus 1 x 10 a 6 CFU's/g,
Inulina de yacón 20 g en 100 ml,
Palatinosa (carbohidrato) 10 g en 100 ml,
Prolibra (proteína) 12 g en 100 ml.
- 15 10.- Integre la mezcla simbiótica sinérgica a la bebida de té verde procesado tradicional, de la siguiente manera:
- 1.- Caliente el té verde a una temperatura de 37 °C +/-2
- 2.- Tome la mezcla simbiótica sinérgica a temperatura ambiente (de 20 a 26 °C)
- 3.- Prepare un recipiente con capacidad no menor a un litro y medio, tome los dos recipientes donde tiene el té verde tradicional y la mezcla simbiótica sinérgica, colóquelos boca a boca sobre el tercer recipiente donde ambas mezclas se verterán, el té verde y la mezcla simbiótica sinérgica, lentamente vacíe ambos en el recipiente dejando que de forma natural los líquidos se mezclen.
- 20 4.- Una vez vertido todo el contenido de ambos, deje reposar durante 30 minutos para asegurarse de que los probióticos se integren al medio (no mezcle mecánicamente), a temperatura ambiente, que ya se definió. Esto permitirá una pre-fermentación del té y dará un toque de acidez agradable al sabor.
- 25 Después de los 30 minutos de reposo, refrigere durante todo el tiempo de vida útil, el cual, de media, no será más de 15 días a temperaturas entre los 6 y los 8 °C.
- En base a todo lo descrito anteriormente podemos afirmar las siguientes bondades que tiene el proceso para la obtención de una mezcla de probióticos, prebióticos y nutrientes con acción simbiótico-sinérgica.
- 1.- La mezcla simbiótica sinérgica proporciona probióticos vivos y activos.
- 30 2.- Se puede modular el sabor de un alimento de neutro a dulce.
3. - Las cepas probióticas se pueden reproducir solamente acondicionando la temperatura como parámetro biofísico.
- 4.- La mezcla simbiótica sinérgica se puede adicionar a alimentos primarios, procesados o bebidas cuidando las restricciones antes descritas y siguiendo las recomendaciones de que las bases líquidas se refrigieren.
- 5.- Se puede regular la viscosidad de la mezcla simbiótica sinérgica.
- 35 6.- La mezcla simbiótica sinérgica puede ser congelada.
- 7.- La mezcla simbiótica sinérgica es capaz de tolera las microondas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener una mezcla para preparar un alimento funcional con acción simbiótica sinérgica que comprende: al menos una cepa probiótica, una solución prebiótica y nutrientes que se adicionan para consumo humano, **caracterizado porque** la cepa probiótica se selecciona del grupo de los géneros: *Lactobacillus*, *Bifidus*, *Streptococcus*, y *Levaduras*; y la solución prebiótica comprende inulina natural, aminos y un carbohidrato simple, que comprende los siguientes pasos:
- i) Sacar la cepa probiótica de la refrigeración al menos 20 minutos antes de la primera manipulación.
 - ii) Esparcir lo más ampliamente posible la cepa probiótica dentro de un recipiente.
 - iii) Deslío-filizar la cepa probiótica rociando agua sobre los probióticos.
 - iv) Calentar agua en un recipiente a una temperatura de 37.5 °C.
 - v) Verter de forma lenta y alternada sobre un recipiente limpio, la cepa probiótica humedecida y el agua caliente en una proporción 1:1 a 1:10.
 - vi) Mezclar lentamente dentro del recipiente con la ayuda de un agitador la cepa probiótica humedecida y el agua caliente hasta homogenizar.
- De forma paralela al enfriamiento de la cepa probiótica se procede a:
- vii) Calentar agua en un recipiente a una temperatura de entre 25 a 100 °C.
 - viii) Añadir inulina al agua caliente, manteniendo la siguiente proporción agua-inulina: 1:1 a 1:0.1.
 - ix) Batir el agua y la inulina en una batidora a una velocidad de entre 10 a 150 rpm para evitar apelmazamientos en la mezcla.
 - x) Añadir un carbohidrato simple en la siguiente proporción prebiótico- carbohidrato simple: 1:1 a 1:0.1. Se selecciona un carbohidrato simple por su alta bio-disponibilidad.
 - xi) Añadir 5.0 g de aminos por cada litro de mezcla total; cuando se integran, estas aminos favorecen la sustentabilidad de los probióticos vivos.
 - xii) Pasteurizar la mezcla prebiótica (en el caso de no cumplir la normativa ISO 22000 aplicable al plan "Haccp" y la USP 797, ISO "designation 7"), en un pasteurizador tubular para evitar agentes patógenos.
- Una vez listas la cepa probiótica y el prebiótico se procede a:
- xiii) Mezclar las cepas probióticas ya acondicionadas con la mezcla prebiótica.
 - xiv) Almacenar la mezcla de probióticos y prebióticos vertiéndola lentamente en un recipiente no traslucido de cierre hermético.
 - xiv) Añadir los nutrientes seleccionados de proteínas de origen animal o vegetal, con o sin la presencia de los nueve aminoácidos esenciales, lípidos preferiblemente los de cadena corta, omegas y carbohidratos también de cadena corta para liberación de energía en metabolizaciones simples.
 - xvi) Incubar la mezcla de probióticos y prebióticos metiéndola en una estufa de laboratorio, dejándola en incubación al menos 24 horas a 37.5 +/- 20% °C.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde el pH de la mezcla varía entre 3.5 y 6.8.
3. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la viscosidad de las mezclas varía entre 0.005 a 0.0005 Pa.s a 20 °C.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el probiótico *Lactobacillus* es seleccionado del grupo de especies: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. rauteri*, *L. lactis*, *L. Fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. acidophilus*, *L. crispus*, *L. amylovorus*, *L. delbrueckii* y *L. bulgaricus* y la solución prebiótica.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el probiótico *Bifidus* se selecciona del grupo: *B. breve*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. bacterium*, *B. Lactis*, *B. animalis*, *B. suis* y *B. longum*.
6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** las cepas probióticas *Streptococcus* son: *S. sanguis*, *S. Bovis*, *S. Cremorisir*, *S. Thermophilus* y *S. gallalylius*.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la cepa probiótica *Levaduras* es D-glucanos β 1,3/ β 1,6.
8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la inulina es de origen de: Chicoria, Agave, Enula, batata, alcachofa, espárrago, patata de Jerusalén (*Solanum tuberosum*), yacón, puerro, ajo común y *Taraxacum officinale*.
9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los carbohidratos simples son: glucosa, palatinosa, (es glucosa y fructosa) y estevia.
10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la amina es vitamina E, clorhidrato de Piridoxina, ácido fólico, vitamina B12 y ácido ascórbico.

11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, porque el alimento funcional que está **caracterizado porque** comprende la mezcla obtenida mediante el proceso de las reivindicaciones 1-10 es un pastel.
12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, porque el alimento funcional que está **caracterizado porque** comprende la mezcla obtenida mediante el proceso de las reivindicaciones 1-10 es un gel.
- 5 13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, porque el alimento funcional que está **caracterizado porque** comprende la mezcla obtenida mediante el proceso de las reivindicaciones 1-10 es una bebida.