

COMPOSICIÓN Y MÉTODO PARA COMPUESTOS GERMINATIVOS EN PRODUCTOS DE ALIMENTOS Y BEBIDAS PROBIÓTICAS PARA CONSUMO HUMANO

REFERENCIA CRUZADA A LA SOLICITUD RELACIONADA

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud provisional de patente estadounidense No. 62/581.324 radicada el 3 de noviembre de 2017. Esta solicitud también reivindica el beneficio de la Solicitud provisional de patente estadounidense No. 62/596,424 radicada el 8 de diciembre de 2017.

ANTECEDENTES

[0002] Recientes avances científicos han arrojado luz sobre la importancia de la relación entre las bacterias del intestino humano (el microbioma) y la salud general. El microbioma humano es un producto de nuestra genética, nuestra dieta, y nuestro ambiente. Los probióticos se pueden usar para alterar el microbioma humano. Los probióticos para consumo humano están disponibles en forma de cápsulas y como productos alimenticios (p.ej., yogurt, bebidas, etc.). Si bien hay ejemplos de té probiótico en el mercado, no existe ninguno que incluya un componente activador para germinar esporas probióticas para mejorar la eficacia. Aquí se describe una invención que incluye la provisión de compuestos activadores con esporas bacterianas de *Bacillus* para consumo humano de probióticos en té, sopas, salsas, chocolate caliente, y otros productos de alimentos y bebidas, en especial líquidos y fluidos calentados.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0003] El sistema y el método de la invención son descritos en mayor detalle en relación con el siguiente dibujo en donde:

La FIG. 1 muestra fotografías de especies de *Bacillus* en una composición nutriente germinativa de acuerdo con una modalidad preferida en el tiempo cero (momento en el cual se adiciona agua caliente inicialmente) y después de remojar en agua caliente durante 60 minutos a varias temperaturas de acuerdo con métodos preferidos de la invención, los puntos oscuros indican bacterias germinadas y los puntos más claros y brillantes indican esporas no germinadas;

La FIG. 2 muestra fotografías de especies de *Bacillus* y una composición nutriente germinativa de acuerdo con una modalidad preferida en té remojado (té negro y té verde) de acuerdo con un método preferido de la invención, los puntos oscuros indican bacterias germinadas y los puntos más claros y brillantes indican esporas no germinadas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0004] Recientes avances científicos han arrojado luz sobre la relación entre las bacterias del intestino humano (el microbioma) y la salud en general. El microbioma humano es un producto de nuestra genética, nuestra dieta, y nuestro ambiente. Los probióticos se pueden usar para alterar el microbioma humano con el fin de regular el sistema digestivo y reforzar el sistema inmunológico. En general, los probióticos son bacterias no patógenas que pueden incluir especies de bacterias productoras de ácido láctico (*Lactobacillus*), *Bifidobacterium*, y *Propionibacterium*. Las especies de *Bacillus* también son usuales como probióticos. Los probióticos han sido ampliamente utilizados en animales como alternativa a las hormonas y antibióticos, en las plantas para intensificar ciertas características del crecimiento, y en los seres humanos como un suplemento digestivo. Los probióticos para consumo humano están disponibles en forma de cápsulas y como productos alimenticios (p.ej., yogurt, zumo, etc.). En el mercado también se encuentran probióticos que se administran con el té. Los productos probióticos del té contienen bacterias probióticas empacadas con té en una bolsa porosa. las bolsas de té se remojan en agua caliente durante un tiempo y se consumen. Como alternativa, el té Kombucha es un tipo de bebida probiótica en la cual se adiciona un cultivo simbiótico de bacterias y levadura (SCOBY) a un té que contiene azúcar. El SCOBY entonces actúa fermentando el azúcar presente en el té dando como resultado vitaminas y ácidos. En este caso, el azúcar actúa como un sustrato y la bebida no contiene aminoácidos conocidos por activar las bacterias.

[0005] En el caso de las especies de *Bacillus* como los probióticos (p.ej., *B. coagulans*), las bacterias son suministradas en forma de esporas. Las esporas representan una singular etapa vital de especies específicas de bacterias en las cuales estas especies tienen la capacidad de hacer el tránsito hacia una etapa latente de spora si las condiciones ambientales son desfavorables. Las esporas son naturalmente deshidratadas, permanecen estable durante periodos prolongados, y son resistentes a factores estresantes ambientales (p.ej., calor, sal, pH, etc.). En el caso de las esporas de *Bacillus* en productos de té, las esporas preferiblemente son más resistentes a las altas temperaturas del agua del remojo.

[0006] Para que las esporas regresen a un estado viviente, de crecimiento vegetativo, primero tienen que germinar. La germinación de las esporas es un proceso de varias etapas en el cual las esporas salen de su estado inactivo. El primer paso se caracteriza porque las esporas son activadas y se induce su germinación, casi siempre por una señal ambiental que se conoce como un germinador. Esta señal puede ser un nutriente como un L-aminoácido, iones de potasio (p.ej., KCl), y/o compuestos osmoprotectores naturales (p.ej., ectoína). Los germinadores nutrientes se unen a receptores en la membrana interna de la spora para iniciar la germinación. Adicionalmente, se ha demostrado que los azúcares incrementan la afinidad de unión de los L-aminoácidos por sus receptores análogos.

[0007] La señal germinativa inicia una cascada irreversible de eventos, también conocida

como compromiso. El compromiso es rápido y suele estar completo en más de 90% al cabo de 2 minutos. A medida que la germinación avanza, la espora rápidamente capta agua. A medida que la espora absorbe agua pierde por consiguiente su capacidad refractiva. Esta pérdida de la capacidad refractiva hacia el final de la primera fase del proceso de germinación permite observar la germinación de las esporas en un microscopio de contraste de fase. La fase inicial suele estar completa al cabo de 30 a 60 minutos dependiendo de la temperatura. La segunda fase de germinación es un paso de crecimiento hacia afuera en la cual se inician las vías metabólica, biosintética y de replicación/replicación del ADN de la espora. El periodo de crecimiento hacia afuera incluye un periodo de maduración en el cual no hay cambios morfológicos (como crecimiento celular), pero se activa la maquinaria molecular de la espora (p.ej., factores de transcripción, maquinaria de traducción, maquinaria de biosíntesis, etc.). La duración de este periodo puede variar con base en los recursos iniciales empacados con la espora durante el proceso de esporulación.

[0008] Se sabe que se puede inducir la germinación de las esporas por medio de activación con calor. Las esporas de varias especies de *Bacillus* han sido activadas con calor a temperaturas de tensión específicas (p.ej., las esporas de *B. subtilis* pueden ser activadas con calor a 75°C durante 30 minutos en tanto que las esporas de *B. licheniformis* pueden ser activadas con calor a 65°C durante 20 minutos). Se piensa que la activación con calor causa un desdoblamiento transitorio y reversible de las proteínas de la espora. Si a las proteínas de la espora no se les presenta un nutriente germinador, como la L-alanina, volverán a plegarse y efectivamente se revertirá el proceso de germinación.

[0009] La presente invención describe una composición y un método para activar esporas probióticas en productos de alimentos y bebidas, como té remojados, sopas, salsas, chocolate caliente, café, y otros productos, en especial líquidos y fluidos calentados. El método incluye la provisión de nutrientes germinadores con esporas de *Bacillus* que serán activadas por calor y a continuación germinadas con nutrientes germinadores mientras que el producto alimenticio o bebida está siendo calentado, como sucede cuando el té está siendo remojado en agua caliente. De acuerdo con una modalidad preferida, los dos componentes probióticos (esporas bacterianas y nutrientes germinadores) pueden ser proporcionados como componentes secos en una cápsula para cafetera automática (p.ej., Keurig®, Nespresso®, Tassimo®, etc.) que contiene té u otro producto alimenticio o bebida. De acuerdo con otra modalidad preferida, los ingredientes pueden ser proporcionados como ingredientes mezclados (composición nutriente germinativa y esporas) en un empaque de ración única para ser adicionado al té o a otro producto alimenticio o bebida, componentes mezclados (composición nutriente germinativa y esporas) en una bolsa única que contiene té u otro producto alimenticio o bebida, o como componentes separados en bolsas de té separadas (p.ej., dos bolsas que contienen cualquier combinación de la composición nutriente germinativa, esporas y té) u

otro recipiente para otro producto alimenticio o bebida. De acuerdo con una modalidad preferida, las esporas pueden ser activadas con calor en presencia de nutrientes germinadores en un método que se describe en la solicitud de patente estadounidense No. 15/479.773, la cual se incorpora a la presente mediante referencia.

[0010] *Composiciones de nutrientes*

[0011] Aquí se describen son modalidades preferidas de composiciones de nutrientes que pueden contener uno o más L-aminoácidos, D-glucosa, D-fructosa, un amortiguador biológico, una fuente de iones de potasio, y/o un osmoprotector natural. Todos los componentes de la formulación de nutrientes tienen que ser Generalmente Considerados Seguros (GCS) para consumo humano por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. En el momento de la redacción de este documento, la mayoría, si no todos, de los componentes aquí descritos han sido GCS.

[0012] De acuerdo con una modalidad preferida, la composición nutriente germinativa puede incluir uno o más L-aminoácidos. El o los L-aminoácido preferidos incluidos en la formulación de nutrientes son L-alanina, L-asparagina, L-valina, y/o L-cisteína. La elección de los L-aminoácidos se determina por la especie de *Bacillus* empleada en la formulación probiótica. Los L-aminoácidos pueden ser proporcionados en la forma de cualquier fuente adecuada, como sus formas puras y/o un hidrolizado de proteína de soya.

[0013] De acuerdo con otra modalidad preferida, la composición nutriente germinativa como opción puede contener una cantidad de D-glucosa y/o D-fructosa. La elección del azúcar se determina por la especie de *Bacillus* empleada en la formulación probiótica.

[0014] De acuerdo con otra modalidad preferida, la composición nutriente germinativa como opción puede contener una o más fuentes de iones de potasio. De preferencia, se puede incluir KCl como fuente de iones de potasio en la formulación de nutrientes. La inclusión de iones de potasio es determinada por la especie de *Bacillus* empleada en la formulación probiótica.

[0015] De acuerdo con otra modalidad preferida, la composición nutriente germinativa como opción puede contener uno o más amortiguadores biológicos. El amortiguador biológico es un amortiguador que puede amortiguar la formulación de nutrientes y/o nutriente-forma de esporulación, para mantener la formulación en el pH adecuado para la germinación de las esporas (pH cercano a 6-8). Los amortiguadores biológicos preferidos incluyen, pero sin limitaciones, un amortiguador de fosfato o una sal sódica de HEPES. De acuerdo con otra modalidad preferida, se pueden incluir fosfato monosódico y fosfato disódico, de preferencia usados juntos⁴ en la formulación de nutrientes como amortiguadores. De acuerdo con otra modalidad preferida, se puede usar un amortiguador HEPES.

[0016] De acuerdo con otra modalidad preferida, la solución de nutrientes como opción puede contener un compuesto osmoprotector. De preferencia, se puede incluir la ectoína, un osmoprotector natural producido por algunas especies de bacterias. La inclusión de un

osmoprotector está determinada por la especie de *Bacillus* empleada en la formulación probiótica.

[0017] De acuerdo con otra modalidad preferida, la composición de nutrientes es cualquiera de las composiciones de nutrientes descritas en la solicitud de patente estadounidense No 15/479.773.

[0018] De acuerdo con otra modalidad preferida, una composición de nutrientes puede contener ingredientes en una o más de las categorías arriba mencionadas de ingredientes y puede contener uno o más ingredientes de entre esas categorías.

[0019] *Formas de esporulación*

[0020] Algunas modalidades preferidas de formas de esporulación incluyen esporas de una o más especies de *Bacillus*, incluidos, pero sin limitaciones, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus lentus*, *Bacillus clausii*, *Bacillus circulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lactis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus laevolacticus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus simplex*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus sonorensis*, *Bacillus horneckiae*, *Bacillus axarquiensis*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus olivae*, y combinaciones de las anteriores. Todas las cepas presentes en la formulación probiótica tienen que ser Generalmente Consideradas Seguras (GCS) para consumo humano por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. En el momento de radicar la presente solicitud, varias, aunque no todas, de las cepas arriba mencionadas han consideradas como GCS. Cualquier especie de *Bacillus* de la que posteriormente se determine que es GCS se incluye en la presente como adecuada para emplearla con modalidades de la invención.

[0021] Las formas de esporulación preferidas pueden contener 1-20 o más especies de esporas de *Bacillus*. De acuerdo con una modalidad preferida, una forma de esporulación puede contener 3 cepas de bacterias de *Bacillus*. De acuerdo con otra modalidad preferida, 2 cepas de las bacterias tipo *Bacillus* pueden ser cada una cepa diferente de la especie *Bacillus licheniformis* y la tercera cepa es una especie de *Bacillus subtilis*. De acuerdo con otra modalidad preferida, cerca de 80% de la formulación puede corresponder a *Bacillus licheniformis* (40% de cada cepa) y 20% de las esporas presentes en la forma de esporulación puede ser *Bacillus subtilis*. De acuerdo con otra modalidad preferida, las esporas de la(s) cepa(s) incluida(s) en la forma de esporulación pueden ser mezcladas con agua u otro vehículo adecuado y/o sales orgánicas.

[0022] De la mayor preferencia, la especie de *Bacillus* que puede estar presente en las formas de esporulación puede producir y/o ser capaz de producir una o más enzimas incluidas, pero sin limitaciones, proteasas, amilasas, lipasas, glucosidasas, celulasas, esterases, y xilanasas. Las pruebas y ensayos para determinar la producción de dichas enzimas en una especie de *Bacillus* son generalmente conocidas en el estado de la técnica y por la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente.

[0023] De acuerdo con una modalidad preferida, la forma de esporulación puede

contener cerca de 0,1% a 90% en peso de esporas, junto con sal u otro vehículo apropiado, como bicarbonato de sodio, o maltodextrina, o una combinación de estos. En algunas modalidades, la forma de esporulación contiene cerca de 5% en peso de esporas. La forma de esporulación puede ser y/o incluir un polvo u otra forma seca (p.ej., forma secada por aerosol de un concentrado líquido de esporas, o forma de esporulación liofilizada) que contiene esporas. De acuerdo con otra modalidad preferida, la concentración total de esporas en la forma de esporulación puede fluctuar de cerca de 1×10^5 UFC/mL o esporas/g a 1×10^{14} UFC/mL o esporas/g o cualquier concentración o intervalo específico. La concentración total preferida de esporas en la forma de esporulación puede ser de cerca de 1, 1,125, 1,5, 1,75, 2, 2,25, 2,5, 2,75, 3, 3,25, 3,5, 3,75, 4, 4,25, 4,5, 4,75, 5, 5,25, 5,5, 5,75, 6, 6,25, 6,5, 6,75, 7, 7,25, 7,5, 7,75, 8, 8,25, 8,5, 8,75, 9, 9,25, 9,5, o $9,75 \times 10^5$, 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} o 10^{14} UFC/mL o esporas/g o cualquier intervalo u otro valor allí contenido. De acuerdo con otra modalidad preferida, cualquier especie específica de espora puede estar presente en la forma de esporulación a una concentración que puede fluctuar de cerca de 1×10^5 UFC/mL a 1×10^{14} UFC/mL o cualquier intervalo específico allí contenido. La concentración preferida de cualquier especie específica de espora presente en las modalidades preferidas de formas de esporulación de acuerdo con la invención puede ser de cerca de 1, 1,125, 1,5, 1,75, 2, 2,25, 2,5, 2,75, 3, 3,25, 3,5, 3,75, 4, 4,25, 4,5, 4,75, 5, 5,25, 5,5, 5,75, 6, 6,25, 6,5, 6,75, 7, 7,25, 7,5, 7,75, 8, 8,25, 8,5, 8,75, 9, 9,25, 9,5, o $9,75 \times 10^5$, 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} o 10^{14} UFC/mL o esporas/g o cualquier intervalo u otro valor allí contenido. De preferencia, la forma de esporulación es biodegradable. De acuerdo con otra modalidad preferida, la forma de esporulación concentrada puede contener cerca de $1-9 \times 10^9$ o 10^{10} UFC/mL o esporas/g. De acuerdo con otra modalidad preferida, la forma de esporulación concentrada puede contener cerca de 10^{10} UFC/mL o esporas/g.

[0024] De acuerdo con una modalidad preferida de una composición probiótica de té, la composición comprende una composición de nutrientes, una forma de esporulación, y té. De acuerdo con otra modalidad preferida o una composición probiótica para consumo humano, la composición comprende una composición de nutrientes, una forma de esporulación, y un producto alimenticio o bebida, como sopas, salsas, chocolate caliente. De la mayor preferencia, la composición de nutrientes y la forma de esporulación en estas modalidades son una de las modalidades arriba descritas, ambas en forma de en polvo seco u otra otra forma sólida seca. Se puede usar cualquier variedad de té u otro producto alimenticio o bebida. De la mayor preferencia, el producto alimenticio o bebida es uno que se calienta antes de ser consumido.

[0025] De acuerdo con un método preferido de proporcionar un té probiótico para consumo humano, una composición de nutrientes y una forma de esporulación son adicionadas a cualquier variedad de té. De la mayor preferencia, la composición de nutrientes y la forma de esporulación son una de las modalidades arriba descritas. De

acuerdo con una modalidad preferida, la composición de nutrientes, la forma de esporulación, y el té u otro productos alimenticios o bebidas combinan en una mezcla antes de remojar en agua caliente o calentar de otra manera el producto alimenticio o bebida. De acuerdo con otras modalidades preferidas, la composición de nutrientes, la forma de esporulación, y el té pueden ser componentes separados que son adicionados juntos al agua caliente para preparar el té probiótico o adicionados al otro producto alimenticio o bebida para ser calentados o ya calentados, o cualquier combinación de dos de los componentes pueden ser premezclados juntos y adicionados al tercer componente antes de o después de añadir agua caliente para preparar el té probiótico o antes o después de calentar el otro producto alimenticio o bebida. El orden de la adición de los tres componentes y el agua caliente o alimento o bebida calientes no es crítico y se puede hacer en cualquier orden. Cuando se usa para té, después de mezclar o añadir los tres componentes, individualmente o en forma de combinación premezclada, con agua caliente, la mezcla se deja reposar, de preferencia durante 2 a 10 minutos antes de ser consumida por un ser humano. Dos minutos es la cantidad mínima preferida de tiempo de infusión, pero el tiempo total puede variar con base en el tipo de té utilizado y qué tan fuerte desea el té la persona que va a consumir el té probiótico. Por ejemplo, el té verde usualmente se deja remojar 2-4 minutos en tanto que el té Oolong normalmente se deja remojar 5-8 minutos. El consumo de preferencia se hace bebiendo o ingiriendo por vía oral el té probiótico. De la mayor preferencia, el agua caliente está a una temperatura en el intervalo de 42 a 100°C cuando se adiciona inicialmente a los otros componentes. La temperatura del agua caliente de preferencia no es inferior a 42°C, y el intervalo puede variar dependiendo de tipo de té que se está usando. Por ejemplo, el té verde normalmente se remoja a una temperatura en el intervalo de 65-80°C y té negro usualmente se remoja a una temperatura en el intervalo de 80-100°C.

[0026] Varias composiciones de acuerdo con modalidades preferidas de la invención fueron puestas a prueba de acuerdo con métodos preferidos de la invención. A continuación, se describen las composiciones, los métodos y los resultados.

[0027] EJEMPLO 1 – Una mezcla probiótica de esporas de *Bacillus* (*B. subtilis* y *B. licheniformis*) a una concentración final de cerca de 4×10^6 UFC/mL, en donde UFC quiere decir unidad formadora de colonias, y una composición nutriente germinativa de acuerdo con una modalidad preferida de la invención que comprende L-alanina (0.21g), fosfato monosódico (0.14g), y fosfato disódico (0.5g), se adicionaron a cerca de 240 centímetros cúbicos de agua de la llave a varias temperaturas.

[0028] La cantidad de esporas adicionadas representa una “dosis” de 10^9 UFC de bacterias probióticas, siguiendo las recomendaciones de un estudio de Harvard Health. La cantidad de nutrientes germinadores empleados representa la concentración mínima de germinadores necesaria para iniciar la germinación. Las temperaturas empleadas representan un intervalo de temperaturas de remojo del té.

[0029] Las esporas de cada reacción se observaron en el tiempo 0 y después de 60

minutos usando un microscopio de contraste de fase. Las láminas se prepararon siguiendo procedimientos estándar. Las esporas fueron observadas en un microscopio Olympus BX41 (objetivo de inmersión en aceite 100X)) y se fotografiaron usando una cámara Olympus UC30 controlada por el paquete de software cellSens Dimension.

[0030] La FIG. 1 muestra imágenes representativas de estas pruebas en el tiempo 0 (es decir, inmediatamente después de añadir el agua) y después de 60 minutos en el agua. Los puntos oscuros muestran esporas germinadas, los puntos más claros muestran esporas no germinadas. Las imágenes del grupo A representan esporas que habían sido germinadas usando una composición de nutriente-germinador y calentadas durante el periodo de incubación a 42°C de acuerdo con una composición y un método preferidos de la invención. Las imágenes del grupo B representan esporas que habían sido germinadas usando una composición de nutriente-germinador y calentadas durante el periodo de incubación a 65°C de acuerdo con una composición y un método preferidos de la invención. Las imágenes del grupo C representan esporas que habían sido germinadas usando una composición de nutriente-germinador y calentadas durante el periodo de incubación a 75°C de acuerdo con una composición y un método preferidos de la invención. Las imágenes del grupo D representan esporas que habían sido germinadas usando una composición de nutriente-germinador y calentadas durante el periodo de incubación a 85°C de acuerdo con una composición y un método preferidos de la invención. Las imágenes del grupo E representan esporas que habían sido germinadas usando una composición de nutriente-germinador y calentadas durante el periodo de incubación a 100°C de acuerdo con una composición y un método preferidos de la invención.

[0031] Tomadas en su conjunto, estas imágenes muestran que las esporas de *Bacillus* son germinadas en las composiciones y condiciones de las modalidades preferidas de la presente invención.

[0032] EJEMPLO 2 – Una mezcla probiótica de esporas de *Bacillus* (*B. subtilis* y *B. licheniformis*) a una concentración final de cerca de 4×10^6 UFC/mL y una composición nutriente germinativa, de acuerdo con una modalidad preferida de la invención, que comprende L-alanina (0.21g), fosfato monosódico (0.14g), y fosfato disódico (0.5g), se adicionaron a cerca de 240 centímetros cúbicos de agua de la llave a 85°C. Una bolsa de té que contenía la variedad indicada de té (negro o verde como se muestran en la FIG. 2) fue remojada en el agua durante cerca de 3 minutos, siguiendo las recomendaciones del fabricante del té. Después del remojo, las bolsas de té fueron extraídas mientras que las esporas permanecieron en la mezcla para ser ingeridas como una dosis de probiótico.

[0033] Las esporas de cada reacción se observaron después de 60 minutos usando un microscopio de contraste de fase. Las láminas se prepararon siguiendo procedimientos estándar. Las esporas fueron observadas en un microscopio Olympus BX41 (objetivo de inmersión en aceite 100X)) y se fotografiaron usando una cámara Olympus UC30 controlada por el paquete de software cellSens Dimension.

[0034] La FIG. 2 muestra imágenes representativas de estas pruebas después de 60 minutos en el agua. Los puntos oscuros muestran esporas germinadas, los puntos más claros y brillantes muestran esporas no germinadas. Las imágenes de arriba representan esporas germinadas por remojo en té negro (Lipton™) en tanto que las imágenes de abajo representan esporas germinadas por remojo en té verde (Bigelow®).

[0035] Tomadas en su conjunto, estas imágenes muestran que las esporas de *Bacillus* son germinadas en las composiciones y condiciones de las modalidades preferidas de la presente invención y que los compuestos que se extraen del té durante el remojo no abaten el proceso de germinación.

[0036] Si bien los anteriores ejemplos se refieren al uso de composiciones probióticas con té, las composiciones y métodos de la invención pueden usarse con otros tipos de productos alimenticios o bebidas, como sopas, salsas, o chocolate caliente. De la mayor preferencia, esos productos de alimentos y bebidas son líquidos o fluidos y se consumen después de calentarlos, pero también se pueden usar otros tipos de productos de alimentos y bebidas.

[0037] Todas las cantidades o proporciones de ingredientes que aquí se indican en forma de intervalo incluyen cada cantidad o proporción individual dentro de esos intervalos y todas y cada una de las combinaciones de subconjuntos dentro de los intervalos, incluidos subconjuntos que se superponen de un intervalo preferido a un intervalo más preferido. La persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente apreciará en la lectura de esta especificación, incluidos los ejemplos en ella contenidos, que se pueden hacer modificaciones y alteraciones a la composición y la metodología para lograr la composición dentro del alcance de la invención y el objeto es que el alcance de la invención aquí revelada esté limitado únicamente por la interpretación más amplia de las reivindicaciones que se anexan a la cual el inventor tiene derecho legal.

RESUMEN

[0039] Una composición y un método para activar esporas probióticas en productos de alimentos y bebidas, como remojado en té, café, sopas y salsas. Una composición de nutriente-germinador comprende uno o más L-aminoácidos, opcionalmente uno o más amortiguadores para mantener el pH de la composición cuando se adiciona al agua en un intervalo de cerca de 6-8, opcionalmente D-glucosa, D-fructosa, o ambos, D-glucosa y D-fructosa, y opcionalmente, un osmoprotector. La composición de nutriente-germinador, una o más especies de esporas de *Bacillus*, y un producto alimenticio o bebida pueden ser premezclados en cualquier combinación. Se adiciona agua a la mezcla y se calienta a una temperatura en el intervalo de 42 a 100°C para germinar las esporas probióticas antes de ser consumidas.