



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 228 490**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>: **A23J 3/34**  
**A23L 1/305**

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **00916886 .5**

⑧⑥ Fecha de presentación: **01.03.2000**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **1161152**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **12.12.2001**

⑤④ Título: **Composición nutritiva destinada a la maduración gastrointestinal específica en mamíferos prematuros.**

③⑩ Prioridad: **12.03.1999 EP 99200753**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2005**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2005**

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

⑦② Inventor/es: **Garcia-Rodenas, Clara, L.;**  
**Finot, Paul-André;**  
**Maire, Jean-Claude;**  
**Balleve, Olivier;**  
**Donnet-Hughes, Anne y**  
**Haschke, Ferdinand**

⑦④ Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 228 490 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

Composición nutritiva destinada a la maduración gastrointestinal específica en mamíferos prematuros.

### Campo de la invención

Esta invención se refiere a una composición entérica que contiene péptidos de un tamaño de perfil adaptado, péptidos bioactivos, proteínas intactas, y aminoácidos libres, destinada a la maduración gastrointestinal específica en mamíferos prematuros.

### Antecedentes de la invención

Las composiciones nutritivas basadas en hidrolizados de proteína tales como la leche o la soja, se emplean corrientemente en la nutrición infantil y clínica y particularmente en fórmulas hipoalergénicas y fórmulas para pacientes que padecen problemas varios de absorción intestinal. Es también conocido el empleo de aminoácidos libres en composiciones nutritivas por ejemplo para pacientes que padecen enfermedades o condiciones concretas tales como la enfermedad inflamatoria del intestino, diarreas rebeldes, síndrome del intestino corto, y similares. En consecuencia, los aminoácidos se emplean bien solos o bien en combinación con proteína o hidrolizados de proteína. Los hidrolizados de proteína o mezclas de aminoácidos se emplean también principalmente en casos concretos tales como la alergia a las proteínas en general.

Otro interés en el empleo de hidrolizados de proteína en la nutrición, se debe al hecho de que se absorben más rápidamente en el intestino que el conjunto de proteínas o aminoácidos libres. Sin embargo, no está claro si esta absorción más rápida se traduce en una mejor utilización del nitrógeno dado que los estudios efectuados hasta la fecha han proporcionado resultados contrapuestos (Collin-Vidal *et al*; 1994; *Endocrinol. Metab.*, 30, E 907-914). Además, este interés se genera en el sentido de proporcionar una fuente de aminoácidos para satisfacer las necesidades generales de aminoácidos del paciente y no para proporcionar específicamente las necesidades de la maduración gastrointestinal individual.

La patente US 4.977.137 se refiere a la lactoferrina de la leche como un ingrediente dietético, que puede añadirse a una fórmula infantil, que puede ser la leche o una fórmula infantil corrientemente disponible o puede ser consumida como suplemento dietético para promover el crecimiento del tracto gastrointestinal.

La patente US 5.514.655 describe un producto nutritivo líquido entérico que contiene una mezcla de proteínas de hidrolizados de proteína de soja y una o más fuentes de proteína intacta.

La patente CA 2.163.379 proporciona una composición nutritiva, en donde el componente de nitrógeno dietético contiene del 20 al 30% en peso de aminoácidos libres, del 60 al 75% en peso de caseína hidrolizada y del 5 al 15% en peso de proteína de caseína intacta.

### Resumen de la invención

En consecuencia, en un aspecto, esta invención proporciona una composición entérica nutritiva destinada a favorecer el crecimiento y maduración de tractos gastrointestinales inmaduros de mamíferos jóvenes, que contienen una mezcla de hidrolizados de proteína dietéticos que tienen un grado de hidrólisis en un margen desde el 10% hasta menos del 50% y que están en forma de una mezcla de péptidos de diferentes

tamaños y aminoácidos libres, estando presentes los aminoácidos libres en una cantidad hasta aproximadamente el 20% en peso del contenido total de proteína (cada uno de ellos calculado como nitrógeno x 6,25), estando las proteínas intactas parcialmente en forma de péptidos bioactivos, y en donde los hidrolizados de proteína dietéticos contienen por lo menos aproximadamente el 5% (en peso del contenido total de proteína calculado como nitrógeno x 6,25) de hidrolizado con un grado de hidrólisis de aproximadamente el 40% y por lo menos aproximadamente el 5% de hidrolizados con un grado menor de hidrólisis.

En esta composición, los hidrolizados de proteína dietéticos están en forma de una mezcla de péptidos de diferentes tamaños, aminoácidos libres o una mezcla de los mismos. Los hidrolizados de proteína dietéticos pueden ser hidrolizados de proteínas animales (tales como proteínas de la leche, proteínas de la carne y proteínas de huevo), o proteínas vegetales (tales como proteínas de soja, proteínas de trigo, proteínas de arroz, y proteínas de guisantes). La fuente preferida es la proteína de leche. Los hidrolizados de proteína dietéticos pueden emplearse como tales o pueden aislarse fracciones peptídicas de los mismos.

Las proteínas hidrolizadas contienen por lo menos el 5% (en peso del contenido total de proteína calculado como nitrógeno x 6,25) de hidrolizado con un grado de hidrólisis de aproximadamente el 40% y por lo menos un 5% de hidrolizados con un grado de hidrólisis menor. Los aminoácidos libres están preferentemente en una cantidad de hasta el 20% en peso de un contenido total de proteína (N x 6,25).

Las proteínas intactas pueden ser individuales o fracciones de proteína animal o vegetal enriquecidas, que contienen leche entera, caseínas, proteínas de suero de leche, proteínas de soja o proteínas de arroz, por ejemplo. De preferencia están en una cantidad de por lo menos aproximadamente un 5% del contenido total de proteínas (N x 6,25).

La fracción de proteína intacta puede contener péptidos bioactivos tales como el TGF- $\beta$ 2 o una fuente de péptidos bioactivos tales como la beta-caseína liberada en el intestino mediante hidrólisis enzimática. La concentración final de TGF- $\beta$ 2 puede estar en el margen de 0,1 a 4 ng/mg de proteína total, de preferencia aproximadamente 1 a 2,5 ng/mg.

La composición nutritiva puede contener también una fuente de grasas y una fuente de hidratos de carbono. Esta composición contiene de preferencia una fuente de proteína que proporciona de un 5 a un 30% de la energía total, una fuente de hidratos de carbono que proporciona de un 40 a un 80% de la energía total, una fuente de lípidos que proporciona de un 5% a un 55% de la energía total, minerales y vitaminas para satisfacer las necesidades diarias.

En otro aspecto, esta invención proporciona el empleo de una mezcla selectiva de hidrolizados de proteína dietéticos y de proteínas intactas estando parcialmente en forma de péptidos bioactivos para la preparación de una composición entérica nutritiva para favorecer el crecimiento y maduración de tractos gastrointestinales inmaduros o premaduros de mamíferos jóvenes.

La composición nutritiva pretende también cubrir necesidades altamente nutritivas para el crecimiento y desarrollo durante dicha etapa. Asegura una digestión óptima y una utilización (para la acreción de tejido) de una fuente de proteína y pretende minimizar el

deshecho de nitrógeno del organismo. Además, una mezcla de proteína intacta, hidrolizados de proteína, péptidos bioactivos y aminoácidos libres proporciona una fuente mejor de aminoácidos para satisfacer las necesidades generales de aminoácidos del paciente además de las específicamente favorables a la maduración de órganos individuales.

A continuación, se describen varias versiones de la invención solamente a título de ejemplo.

#### Descripción detallada de la invención

En la especificación, el término "grado de hidrólisis" (DH) significa el tanto por ciento de nitrógeno en forma de nitrógeno amino-alfa libre con respecto al nitrógeno total. Es una medida de la extensión a la cual la proteína ha sido hidrolizada.

El término péptido bioactivo se refiere a i) una proteína o péptido presente como tal en la preparación y que demuestra propiedades funcionales específicas, o ii) una proteína o péptido que contiene una secuencia de aminoácidos con propiedades específicas, siendo dicha secuencia liberada en el tracto gastrointestinal durante el proceso natural de la digestión.

De acuerdo con el primer aspecto de la invención, la composición nutritiva contiene como fuente de proteína una mezcla selectiva de proteína intacta estando parcialmente en forma de péptidos bioactivos e hidrolizados de proteína dietéticos y teniendo un grado de hidrólisis en un margen desde un 10% hasta aproximadamente un 50% de aminoácidos libres. La concentración de nitrógeno no proteínico de la fuente de proteína puede estar comprendida entre un 10% y un 95% del nitrógeno total. Dicha fuente de proteína maximiza el área del intestino en el cual la proteína se digiere y optimiza la síntesis de proteína en el intestino y tejidos periféricos.

La composición nutritiva puede contener también una fuente de hidratos de carbono, una fuente de grasas, vitaminas y minerales.

La proteína intacta puede ser cualquier proteína dietética adecuada; por ejemplo proteínas animales (tales como proteínas de la leche, proteínas de la carne y proteínas del huevo), proteínas vegetales (tales como proteína de soja, proteína de trigo, proteína de arroz y proteína de guisante); o combinaciones de las mismas. Las proteínas de la leche tales como la caseína y la proteína del suero de leche son particularmente preferidas. De preferencia se encuentran en una cantidad por lo menos de aproximadamente el 5% del contenido total de proteínas (calculado como nitrógeno x 6,25).

La proteína dietética en forma de proteína intacta se ha descubierto que aumenta la proporción de síntesis de proteína muscular en comparación con los hidrolizados de proteína.

Los hidrolizados de proteína dietéticos pueden proceder de cualquier proteína dietética adecuada; por ejemplo proteínas animales (tales como proteínas de la leche, proteínas de la carne y proteínas del huevo), proteínas vegetales (tales como proteína de soja, proteína de trigo, proteína de arroz y proteína de guisante); o combinaciones de las mismas. Se prefieren particularmente las proteínas de la leche tales como la caseína y el suero de leche. Las proteínas dietéticas hidrolizadas pueden contener por lo menos del 5% (en peso, del contenido total de proteínas (calculado como nitrógeno x 6,25), de hidrolizado con un grado de hidrólisis de aproximadamente el 40% y por lo menos el 5% de hidrolizados con un grado

menos de hidrólisis.

En particular, los hidrolizados que tienen un grado de hidrólisis de aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 15%, se ha descubierto que aumentan el peso relativo del hígado comparado con las mezclas de aminoácidos libres. Los hidrolizados con un grado de hidrólisis de aproximadamente el 15% hasta aproximadamente el 25% se ha descubierto que aumentan la concentración de proteína en el yeyuno, el peso relativo del yeyuno y la proporción de la síntesis de proteína en el yeyuno. La proteína altamente hidrolizada con un grado de hidrólisis mayor del 25% o que contiene más del 25% en peso de di y tripéptidos, con más preferencia, mayor del 30%, se ha descubierto que aumenta el tanto por ciento de síntesis de proteína en el yeyuno y el duodeno, en particular el duodeno.

Los hidrolizados de proteína dietéticos pueden obtenerse empleando procedimientos ya bien conocidos en la técnica o bien pueden adquirirse comercialmente. Por ejemplo, fórmulas nutritivas que contienen hidrolizados con un grado de hidrólisis inferior a aproximadamente el 15% pueden adquirirse comercialmente de Nestlé Nutrition Company con el nombre registrado de Peptamen®. Hidrolizados con un grado de hidrólisis por encima de aproximadamente el 15% pueden prepararse empleando el procedimiento descrito en la patente EP 0322589.

La fuente de hidrolizado de proteína dietético puede estar también en forma de una mezcla de aminoácidos libres; de preferencia una tal mezcla proporciona un perfil equilibrado de aminoácidos. Los aminoácidos libres están de preferencia en una cantidad de hasta el 20% en peso del contenido total de proteína (calculada como nitrógeno x 6,25).

La proteína dietética en forma de una mezcla de aminoácidos está para aumentar el peso relativo del yeyuno y la proporción de síntesis de proteína en el yeyuno.

La fuente de proteínas totales proporciona de preferencia desde el 5% a aproximadamente el 30% de la energía de la composición nutritiva; por ejemplo desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 20% de la energía. La energía restante de la composición nutritiva puede ser proporcionada en forma de hidratos de carbono y grasas.

Si la composición nutritiva contiene una fuente de grasas, la fuente de grasas proporciona de preferencia aproximadamente del 5% a aproximadamente el 55% de la energía de la composición nutritiva; por ejemplo aproximadamente del 20% a aproximadamente el 50% de la energía. Los lípidos que completan la fuente de grasas pueden ser cualquier grasa adecuada o mezcla de grasas. Las grasas vegetales son particularmente adecuadas, por ejemplo, aceite de soja, aceite de palma, aceite de coco, aceite de cartamo, aceite de girasol, aceite de maíz, aceite de canola, lecitinas y similares. Grasas animales tales como las grasas de la leche pueden también añadirse si se desea. Los lípidos pueden también incluir triglicéridos de cadena media; por ejemplo hasta aproximadamente el 60% en peso de lípidos como triglicéridos de cadena media. El aceite de coco fraccionado es una fuente apropiada de triglicéridos de cadena media.

Una fuente de hidratos de carbono puede añadirse a la composición nutritiva. De preferencia, proporciona aproximadamente del 40% a aproximadamente el 80% de la energía de la composición nutritiva. Pueden emplearse cualesquiera hidratos de carbono, por

ejemplo, la sucrosa, lactosa, glucosa, fructosa, jara-be sólido de maíz, y maltodextrinas y mezclas de los mismos.

La fibra dietética puede también añadirse si se desea. Si se emplea, contiene de preferencia hasta aproximadamente un 5% de la energía de la composición nutricional. La fibra dietética puede ser de cualquier origen, incluyendo por ejemplo la soja, guisante, avena, pectina, goma guar y goma arábica.

Vitaminas y minerales adecuados pueden incluirse en la composición nutritiva en una cantidad para satisfacer las directrices apropiadas.

Uno o más emulsionantes de calidad alimenticia pueden incorporarse en la composición nutritiva si se desea; por ejemplo, ésteres del ácido diacetiltartárico de monodiglicéridos, lecitina y mono y diglicéridos. Pueden incluirse sales adecuadas similares y estabilizantes.

La composición nutritiva puede administrarse de preferencia entéricamente; por ejemplo en forma de un polvo, un concentrado líquido, una bebida lista para beber o lista para ser administrada.

La composición nutritiva puede prepararse de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, puede prepararse mezclando juntamente la fuente de proteína dietética, la fuente de hidratos de carbono y la fuente de grasas en proporciones adecuadas. Si se emplean, los emulsionantes pueden incluirse en la mezcla. Las vitaminas y minerales pueden añadirse en este punto pero habitualmente se añaden más tarde para evitar una degradación térmica. Cualquier vitamina, emulsionante y similar, lipofílico, puede disolverse en la fuente de grasas antes de la mezcla. A continuación, puede añadirse agua de preferencia agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua es conveniente que sea aproximadamente de 50°C a aproximadamente 80°C para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Pueden emplearse licuefactores comercialmente adquiribles para formar la mezcla líquida. La mezcla líquida se homogeneiza a continuación, por ejemplo, en dos etapas.

La mezcla líquida puede a continuación tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, calentando rápidamente la mezcla líquida a una temperatura en el margen de aproximadamente 80°C a aproximadamente 150°C durante aproximadamente 5 segundos a aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Esto puede efectuarse mediante inyección de vapor, en autoclave o mediante un intercambiador de calor; por ejemplo, un intercambiador de calor en una placa.

A continuación, la mezcla líquida puede enfriarse desde aproximadamente 60°C a aproximadamente 85°C; por ejemplo mediante un enfriamiento flash. La mezcla líquida puede a continuación homogeneizarse de nuevo; por ejemplo, en dos etapas a aproximadamente 7 MPa a aproximadamente 40 MPa en la primera etapa y aproximadamente desde 2 MPa a aproximadamente 14 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede a continuación enfriarse además para añadir cualquier componente sensible al calor, como p. ej., vitaminas y minerales. El pH y el contenido en sólidos de la mezcla homogeneizada se estandariza convenientemente en este punto.

Si se desea producir una composición nutritiva en polvo, la mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado apropiado tal como un secador por pulverización o un secador por congelación y se con-

vierte en un polvo. El polvo debería tener un contenido en humedad inferior a aproximadamente el 5% en peso.

Si se desea producir una composición líquida, la mezcla homogeneizada se envasa de preferencia asépticamente en envases adecuados para el precalentado de la mezcla homogeneizada (por ejemplo desde aproximadamente 75 a aproximadamente 85°C) y a continuación se inyecta vapor a la mezcla homogeneizada para alcanzar una temperatura de aproximadamente 140 a 160°C; por ejemplo a aproximadamente 150°C. A continuación la mezcla homogeneizada puede enfriarse, por ejemplo mediante enfriamiento flash, a una temperatura de aproximadamente 75 a 85°C. La mezcla homogeneizada puede a continuación homogeneizarse, enfriarse a aproximadamente temperatura ambiente y envasarse en recipientes. Pueden adquirirse comercialmente aparatos adecuados para efectuar un envasado aséptico de esta naturaleza. La composición líquida puede estar en forma de una composición lista para comer con un contenido en sólidos de aproximadamente 10 a aproximadamente 14% en peso o puede estar en forma de un concentrado; habitualmente desde un contenido en sólidos de aproximadamente 20 a aproximadamente 26% en peso. Pueden añadirse saborizantes a las composiciones líquidas de forma que las composiciones en forma de bebidas estén provistas de sabor, listas para beber.

En otro aspecto, esta invención proporciona un método para aumentar la concentración y síntesis de proteína en el intestino delgado, comprendiendo el método, la administración a un mamífero premaduro o inmaduro, de una cantidad efectiva de una composición nutritiva que contiene unos hidrolizados de proteína dietéticos con un grado de hidrólisis inferior al 50% y estando las proteínas intactas parcialmente en forma de péptidos bioactivos. Además, el hidrolizado de proteína dietético tiene de preferencia una concentración de nitrógeno no proteínico de por lo menos aproximadamente el 85% de nitrógeno total. Nitrógeno no proteínico se define como la fracción de nitrógeno no recuperada como un precipitado después de una acidificación.

De preferencia, el método puede emplearse para tratar a jóvenes mamíferos premaduros o inmaduros para promover el crecimiento y maduración del tracto gastrointestinal. Adicionalmente, el método puede también aplicarse a situaciones que aparecen en nutrición clínica cuando tienen lugar alteraciones del normal crecimiento o volumen de la mucosa intestinal, p. ej., después de un largo período de nutrición o malnutrición parenteral total.

La composición entérica nutritiva intenta también cubrir los casos de necesidades muy altas de nutrientes para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento durante estas situaciones. Asegura una digestión óptima y utilización (para el aumento de tejido) de la fuente de proteína e intenta minimizar el desecho de nitrógeno por el organismo. La composición puede también ser empleada para pacientes con una lesión en la mucosa intestinal.

La cantidad de composición nutritiva a ser administrada variará en función del estado de maduración y crecimiento del intestino del mamífero.

#### Ejemplo 1

##### *Proteína entera*

Una cantidad de 5 kg de proteína de suero de leche

(adquirido en Meggle GmbH) con el nombre registrado de Globulal 80) se dispersa en agua desmineralizada a 55°C para obtener una concentración de proteína (N\* 6,38) del 10% en peso. El pH de la dispersión se ajusta mediante la adición de 190 g de hidróxido de calcio y la dispersión se enfría a temperatura ambiente. Las proteínas se secan a continuación por liofilización y se envasan en latas metálicas.

Las proteínas totales tienen un grado de hidrólisis de aproximadamente el 4,41% y una concentración de nitrógeno no proteínico de aproximadamente el 1,1% sobre la base del nitrógeno final.

#### Hidrolizado 1

Una cantidad de 6,25 kg de proteína de suero de leche (adquirido en Meggle GmbH) se dispersa en 50 litros de agua desmineralizada a 55°C. El pH de la dispersión se ajusta a 8,2 mediante la adición de 1,8 litros de Ca(OH)<sub>2</sub> 2M. A continuación, se hidrolizan las proteínas empleando 30 g de tripsina (tripsina pancreática libre de sal, la cual tiene una actividad de 6,8 AU/g y un contenido en quimotripsina inferior al 5% y el cual puede adquirirse en Novo Nordisk Ferment AG, Dittigen, Suiza). La reacción de hidrólisis se continúa durante 4 horas a 55°C. Durante la reacción el pH se regula a 7,4 mediante la adición de NaOH 1,6N y KOH 0,4N. Las enzimas se inactivan a continuación calentando la mezcla de reacción a 80°C y manteniendo la mezcla a esta temperatura durante aproximadamente 5 minutos. La mezcla se enfría a continuación hasta 16°C. Las proteínas hidrolizadas se secan a continuación mediante liofilización y se envasan en latas metálicas. El hidrolizado tiene un grado de hidrólisis de aproximadamente el 14% y una concentración en nitrógeno no proteínico de aproximadamente el 54,5% sobre la base del nitrógeno total.

#### Hidrolizado 2

Una cantidad de 6,25 kg de proteína de suero de leche (adquirido en Meggle GmbH) se dispersa en 50 litros de agua desmineralizada a 55°C. El pH de la dispersión se ajusta a 7,5 mediante la adición de 1,6 litros de Ca(OH)<sub>2</sub> 1M y 162 ml de una solución de NaOH 1,6M y KOH 0,4M. Las proteínas se hidrolizan a continuación empleando 50 g de tripsina (adquirible en Novo Nordisk Ferment AG). La reacción de hidrólisis se continúa durante 4 horas a 55°C. Durante la reacción, el pH se regula a 7,4 mediante la adición de NaOH 1,6N y KOH 0,4N. Las enzimas se inactivan a continuación y la proteína no hidrolizada se desnatura, calentando la mezcla de reacción a 90°C y manteniendo la mezcla a esta temperatura durante aproximadamente 5 minutos.

La mezcla se enfría a continuación a 56°C y se hidroliza de nuevo durante 1 hora empleando 50 g de tripsina a 55°C. Durante la reacción, el pH se regula a 7,4 mediante la adición de NaOH 1,6N y KOH 0,4N. Las enzimas se inactivan a continuación calentando la mezcla de reacción a 80°C y manteniendo la mezcla a esta temperatura durante aproximadamente 5 minutos. La mezcla se enfría a continuación a 18°C. Las proteínas hidrolizadas se secan a continuación mediante liofilización y se envasan en latas metálicas.

El hidrolizado tiene un grado de hidrólisis de aproximadamente el 17,3% y una concentración en nitrógeno no proteínico de aproximadamente el 65,9% sobre la base del nitrógeno total.

#### Hidrolizado 3

Una cantidad de 6,25 kg de proteína de suero de leche (adquirida en Meggle GmbH con el nombre registrado de Globulal 80), se dispersa en 50 litros de agua desmineralizada a 55°C. El pH de la dispersión se ajusta a 7,5 mediante la adición de 1,6 litros de Ca(OH)<sub>2</sub> 1M y 162 ml de una solución de NaOH 1,6M y KOH 0,4M. Las proteínas se hidrolizan a continuación empleando 250 g de Alcalase 2,4L (EC 940459 - adquirible en Novo Nordisk Ferment AG). La reacción de hidrólisis se continúa durante 4 horas a 55°C. Durante la primera hora de la reacción el pH se regula a 7,6 mediante la adición de NaOH 1,6N y KOH 0,4N.

Se añade una cantidad de 250 g de Neutrase 0,5L (adquirible en Novo Nordisk Ferment AG) y las proteínas se hidrolizan durante 4 horas más a 50°C. A continuación se inactivan las enzimas calentando la mezcla de reacción a 90°C y manteniendo la mezcla a esta temperatura durante aproximadamente 5 minutos. La mezcla de reacción se enfría a continuación a 55°C.

El pH de la mezcla de reacción se ajusta a 7,33 mediante la adición de NaOH 1,6N y KOH 0,4N y la mezcla de reacción se hidroliza de nuevo durante 4 horas empleando 100 g de pancreatina a 55°C. Durante la reacción el pH se regula a 7,5 mediante la adición de NaOH 1M. Las enzimas se inactivan a continuación calentando la mezcla de reacción a 90°C y manteniendo la mezcla a esta temperatura durante aproximadamente 5 minutos. La mezcla se enfría a continuación a 4°C. Las proteínas hidrolizadas se secan a continuación mediante liofilización y se envasan en latas metálicas.

El hidrolizado tiene un grado de hidrólisis de aproximadamente el 35% y una concentración en nitrógeno no proteínico de aproximadamente el 92,6% sobre la base del nitrógeno total.

#### Ejemplo 2

Con el fin de obtener una composición nutritiva destinada a la maduración específica del tracto gastrointestinal en mamíferos premaduros, se preparó la siguiente mezcla:

- i) 14,5 g/100 g de polvo de proteína total con un contenido de:
  - 10% de hidrolizado 2 como se ha preparado en el ejemplo 1,
  - 40% de hidrolizado 3 como se ha preparado en el ejemplo 1,
  - 50% de proteínas intactas (conteniendo 1 ppm de TGFβ<sub>2</sub>),
- ii) 26 g/100 g de polvo de grasas:
  - 40% de triglicéridos de cadena media
  - 60% de triglicéridos de cadena larga
- iii) 53,6 g/100 g de polvo de hidratos de carbono
  - 65% de lactosa
  - 35% de maltodextrina
- iv) vitaminas y minerales para satisfacer los requerimientos diarios.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición entérica nutritiva destinada a favorecer el crecimiento y maduración de tractos gastrointestinales inmaduros de jóvenes mamíferos, la cual contiene:

- una mezcla de hidrolizados de proteína dietéticos que tienen un grado de hidrólisis en un margen desde el 10% hasta menos del 50%, estando en forma de una mezcla de péptidos de tamaños diferentes y aminoácidos libres, estando presentes los aminoácidos libres en una cantidad de hasta aproximadamente el 20% en peso del contenido total de proteína, (cada uno calculado como nitrógeno x 6,25),

- proteínas intactas que están parcialmente en forma de péptidos bioactivos, y

en donde los hidrolizados de proteína dietéticos contienen por lo menos aproximadamente el 5% (en peso del contenido total de proteína calculado como nitrógeno x 6,25) de hidrolizado con un grado de hidrólisis de aproximadamente el 40% y por lo menos aproximadamente el 5% de hidrolizados con un menor grado de hidrólisis.

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las proteínas intactas están presentes

en una cantidad de por lo menos aproximadamente el 5% en peso del contenido total de proteína.

3. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde las proteínas intactas son proteínas de la leche, proteínas del suero de leche, caseínas y proteínas bioactivas, tales como TGF- $\beta$ .

4. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde los péptidos bioactivos representan por lo menos aproximadamente de 0,1 a aproximadamente 4 ng/mg de proteína total.

5. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, la cual contiene una fuente de proteínas que proporciona del 5 al 30% de la energía total, una fuente de hidratos de carbono que proporciona del 40 al 80% de la energía total, una fuente de lípidos que proporciona del 5 al 55% de la energía total, minerales y vitaminas para satisfacer los requerimientos diarios.

6. Empleo de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para la preparación de una composición entérica nutritiva para favorecer el crecimiento y maduración de tractos gastrointestinales inmaduros de jóvenes mamíferos.

30

35

40

45

50

55

60

65