(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 356 736**

(51) Int. Cl.:
A23L 1/0526 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **03784172 .3**
(96) Fecha de presentación : **05.08.2003**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1549156**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **06.07.2005**

(54) Título: **Harina de algarroba desnaturalizada (HAD) con bajo contenido en taninos solubles y azúcares, destinada al consumo humano y procedimiento para su obtención.**

(30) Prioridad: **06.08.2002 ES 200201865**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.04.2011

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.04.2011

(73) Titular/es: **INVESTIGACIÓN Y NUTRICIÓN, S.L.**
Vicente Muzas, 8
28023 Madrid, ES

(72) Inventor/es: **Ruiz-Roso Calvo de Mora, Baltasar;**
Requejo Marcos, Ana María;
Pérez-Olleros Conde, Lourdes;
Martín-Casero, Metodio y
Haber, Bernd

(74) Agente: **Zea Checa, Bernabé**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La harina de algarroba desnaturalizada y el procedimiento para su obtención a los que se refiere la presente memoria, serán de aplicación en la industria para el desarrollo de productos dietéticos con fibra ricos en taninos condensados para el consumo humano.

ESTADO DE LA TÉCNICA

[0002] Existe un interés considerable en desarrollar productos dietéticos con fibra ricos en compuestos polifenólicos por el conocido papel protector de estas sustancias sobre la enfermedad cardiovascular por reducir la hipercolesterolemia y sus efectos sobre la integridad de la barrera intestinal y la prevención del cáncer de colon.

[0003] En este sentido, y por citar algunos estudios publicados, los compuestos polifenólicos presentes en diferentes concentraciones en la fibra dietética y en diferentes alimentos poseen importantes efectos antioxidantes (Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary poliphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. J Agric Food Chem (2000) 48(8): 3396-402), utilizables en la prevención y tratamiento de ciertas patologías entre ellas el cáncer (Pool-Zobel BL, Adlercreutz H, Glei M, Liegibel UM, Sittlingon J., Rowland I, Wahala K, Rechkemmer G. Isoflavonoids and lignans have different potentials to modulate oxidative genetic damage in human colon cells. Carcinogenesis (2000) 21(6): 1247-52). No obstante, en las diferentes fibras dietéticas los taninos condensados se encuentran en pequeña cantidad y los productos enriquecidos en estos polifenoles naturales no son utilizables en un tratamiento crónico de enfermedades degenerativas porque poseen, a esos niveles, un fuerte efecto astringente y antinutricional.

[0004] Por otro lado, las pectinas, gomas y otros productos similares, componentes mayoritarios de las fibras solubles, aunque se les han encontrado potenciales aplicaciones terapéuticas a sustancias producidas por su fermentación colónica (por ejemplo el butirato) importantes beneficios en el sistema inmune (Pérez R. Stevenson f. Jhonson J. Morgan M. Erickson K. Hubbard N.E. Morand L. Ruduch S. Kaztnelson S. Sodium butyrate upregulates Kupffer cell PGE-2 production and modulates inmune function. J. Surg. Res. (1998) 78, 1-6; Lim B.O. Yamada K. Nonaka M. Kuramoto Y. Hung P. Sugano M. Dietary fibers modulate indices of intestinal inmune function in rats. J. Nutr. (1997) 127, 663-7.) y en la prevención del cáncer de colon en estudios en cultivos celulares (Sowa Y, Sakai T. Butyrate as a model for "gene-regulating chemoprevention and chemoterapy". biofactors (2000); 12 (1-4): 283-7), en ensayos en humanos los resultados no son tan claros, probablemente porque fermentan rápidamente en el colon proximal y aportan poco butirato al colon distal, que es donde aparecen más frecuentemente los procesos neoplásicos (Perrin P, Pierre F, Patry Y, Champ M Berreur M, Pardal G, Bornet F, Meflah K, Menanteau J. Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats. Gut. (2001) 48(1): 53-61). No obstante, principalmente por el interés económico de su impacto en la producción animal, actualmente es bien conocido el efecto de los taninos retrasando la fermentación bacteriana en el tubo digestivo. Por lo tanto, podrían, en las cantidades adecuadas, regular y retrasar la producción de butirato a las porciones finales del colon y recto.

[0005] Además la pulpa de algarroba es rica en ciclitol y pinitol, producto que en el organismo se transforma en inositol, que es una molécula de enorme interés en el control del metabolismo celular (Bates SH, Jones RB, Bailey CJ. Insulin-like effect of pinitol. Br J Pharmacol (2000) 130 (8): 1944-48). El objeto de la presente invención es, por lo tanto, eliminar de la harina de pulpa de algarroba gran parte de sus azúcares y taninos solubles, pero manteniendo un contenido significativo de pinitol y modificar sus taninos condensados para, manteniendo sus efectos beneficiosos (hipolipemiantes, reguladores de la función intestinal, antioxidantes, etc.), eliminar sus efectos astringentes y antinutricionales y poder emplear así el producto como dietético para uso animal y humano, así como componente en medicamentos.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0006] La harina de algarroba desnaturalizada con bajo contenido en taninos solubles y azúcares, que se cita aquí, tiene la siguiente composición, dependiendo de la variedad del fruto utilizada:

Azúcares	normalmente 2-15%; típicamente 3-10%
Ciclitoles (pinitol)	normalmente 0.2-1.5%; típicamente 0.3-1%
Ligninas	normalmente 2-10%; típicamente 2-7%
Celulosas	normalmente 10-30%; típicamente 15-28%
Hemicelulosas	normalmente 3-20%; típicamente 3-9%
Pectinas	normalmente 1-6%; típicamente 2-5%
Taninos condensados	normalmente 25-55%, típicamente 30-48%
Proteína	normalmente 3-9%; típicamente 4-8%
Humedad menos de	normalmente por debajo de 8%; típicamente por debajo de 6%

[0007] Todos los porcentajes están dados en porcentajes en peso (p -%) si no se especifica lo contrario.

[0008] Esta harina se caracteriza por contener como principio activo al menos el 25%, normalmente el 30%, típicamente el 40% de taninos condensados de algarroba desnaturalizados térmicamente y cuya relación ponderal de polifenoles solubles a insolubles es inferior a 0.05 (solubilidad determinada con agua a 37 ºC). La evaluación del contenido de polifenoles se ha realizado determinando en primer lugar el contenido en los taninos solubles en agua a 37 ºC con agitación durante 15 minutos; en esta agua se determinan espectrofotométricamente con el reactivo de "Folin-Ciocalteau" (Singlenton V.L. Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic (1965). 16: 144-158). Los polifenoles insolubles del residuo se determinan por tratamiento con HCl-butanol según el método de Hagerman y colaboradores (Hagerman A.E. Zhao Y. Jonson S**.** Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. En F. Shahidi (Ed), Antinutrients and phytochemicals in foods (pp. 209-222). ACS Symposium Series 662. Washington, DC. American chemical Society).

[0009] En esta invención, la pulpa de algarroba, rica en taninos condensados, formados por polimerización de flavanol-3 y de su ésteres gálicos con fuerte efecto astringente, se tratan con calor (normalmente entre 130 y 200 ºC, típicamente entre 140 y 150 ºC) para producir un cambio en la estructura de los polifenoles con una degradación y polimerización parciales y para eliminar su astringencia y su interferencia con la absorción de los nutrientes de la dieta pero manteniendo la mayor parte de sus efectos positivos. De esta forma, se pueden utilizar en dietética y nutrición humana (como alimentos ordinarios, alimentos enriquecidos, alimentos dietéticos, alimentos, para usos médicos especiales o suplementos dietéticos), sin problemas antinutricionales, mientras se mantienen los efectos de estos taninos condensados como secuestradores de colesterol y de las sales biliares, como antioxidantes, laxantes y reguladores de la fermentación intestinal. Además, son posibles los usos en alimentación animal y para animales de compañía o en medicamentos humanos y animales.

[0010] El procedimiento para la obtención de la harina de algarroba descrita anteriormente consiste en una serie de etapas, de la siguiente manera:

a. **Limpiar el fruto entero**: la limpieza incluye etapas de limpieza por ejemplo, en seco (por ejemplo, separación mecánica de contaminantes) o húmeda (por ejemplo, mediante ducha con agua). Dependiendo del procedimiento de limpieza esta etapa puede incluir adicionalmente una etapa de secado. Éste puede hacerse por ejemplo, en corriente de aire.

b. **Trocear el fruto de algarroba**: esto puede hacerse, por ejemplo, sometiendo las algarrobas por un molino, típicamente un molino de martillos, para trocear las vainas hasta trozos de un tamaño inferior a 3 cm.

c. **Separar las semillas de algarroba y de la pulpa de algarroba troceada**: la semilla puede separarse mediante un tamizador de diámetro de agujero adecuado, dependiendo de las condiciones del procedimiento, de la variedad agronómica y de la humedad del fruto. Como alternativa, puede emplearse un procedimiento de clasificación por aire u otra tecnología mecánica o física adecuados.

d. **Tostar (modificación de la estructura de los taninos condensados)**: este procedimiento es importante para cambiar las propiedades nutricionales de los taninos condensados. Esto se consigue tostando la algarroba troceada a temperaturas por lo general entre 130-200 ºC, típicamente entre 140-150 ºC durante un cierto periodo de tiempo dependiendo del contenido de agua de la pulpa y del tamaño de partícula. Periodos de tiempo normales para el tostado están entre 5-60 minutos, típicamente 10-20 minutos.

e. **Procedimiento de extracción**: la pulpa de algarroba tostada se somete a extracción con agua u otro solvente adecuado para extraer los azúcares y los taninos solubles en agua. El ratio de material de extracción y solvente es normalmente mayor que 1:20 (en peso), típicamente 1:4 (en peso). La extracción puede hacerse a diferentes temperaturas por lo general en el rango de 5-80 ºC, típicamente entre 20-55 ºC. La extracción puede hacerse por ejemplo, en un simple tanque de extracción (con o sin agitador) o en un extractor operando en continuo (extracción con flujo a contracorriente). Dependiendo de otros parámetros de extracción, el tiempo de extracción se encuentra entre 5 minutos y 24 horas, típicamente entre 15 minutos y 2 horas.

f. **Separar**: La separación de los componentes solubles en agua de los insolubles puede hacerse mediante diferentes técnicas que incluyen la decantación, la filtración o la centrifugación.

g. **Moler**: el residuo insoluble en agua es molido hasta un fino polvo por técnicas de molienda. El equipamiento preferido es un molino coloidal, pero también pueden considerarse otras técnicas de molienda (por ejemplo, molinos de bola). Los tamaños de partícula conseguidos están por debajo de 250 μm (90% de partículas por debajo de 250 μm), por lo general por debajo 150 μm (90% de partículas por debajo de 150 μm) y típicamente por debajo de 100 μm (90% de partículas por debajo de 100 μm).

h. Opcionalmente repetición de las etapas e. (**extracción**) y f. (**separación**) para reducir más los constituyentes solubles en agua en el residuo obtenido. Son suficientes dos etapas más de estracción para alcanzar un

contenido en azúcar por debajo de 15% y típicamente por debajo de 10% en el residuo insoluble.

i. **Separación**: Después de la última etapa de extracción el residuo obtenido es prensado, filtrado, decantado o centrifugado para eliminar tanta agua como sea posible.

j. **Secar:** Para reducir el contenido en agua normalmente por debajo del 8%, típicamente el 6%. Esto puede hacerse por distintas técnicas de secado que incluyen el secado en horno, secado por aspersión, secado por vacío, secado en una corriente de aire o gas inerte. Las temperaturas normalmente no tendrían que llegar por encima de 140 ºC, típicamente no por encima de 60-65 ºC.

k. **Clasificación (tamizado)**: dependiendo de la aplicación el producto obtenido puede tamizarse para obtener límites de tamaño de partícula estándares.

[0011] Todo el procedimiento de producción, como se ha descrito antes en las etapas a-k, o partes del mismo, puede hacerse de manera continua.

[0012] Las propiedades de esta harina de algarroba desnaturalizada: hipocolesterolemiante, reguladora de la dinámica gastrointestinal, quelante de sales biliares y antioxidante, en las que basamos sus potenciales aplicaciones dietéticas y farmacológicas para humanos y animales, se han comprobado en varios experimentos realizados con animales de experimentación en el Departamento de Nutrición de la Universidad Complutense de Madrid, de los que resumimos algunos resultados relevantes.

[0013] Primeramente, en animales de experimentación se estudió la influencia de esta harina de algarroba desnaturalizada (HAD) en la ingesta, incremento de peso, crecimiento, volumen fecal, polifenoles y butirato fecales. Para ello, se utilizaron tres lotes de 10 ratas en crecimiento alimentadas con dietas sintéticas isocalóricas ajustadas a sus necesidades nutricionales en las que la única variable fue el tipo de fibra alimentaria utilizada: un 2% de pectina de manzana en todos los lotes como fuente de butirato y un 5% en el lote 1 de celulosa microcristalina (Avicel R), un 5% en el lote 2 de fibra de algarroba (FNA = Fibra Natural de Algarroba) y un 5% en el lote 3 de HAD. Se encontró que la ingesta de HAD no afectó al incremento del peso de los animales ni a la eficacia alimentaria de las dietas frente a celulosa, por lo que se puede concluir que con el tratamiento se ha eliminado el efecto antinutritivo de sus taninos condensados, mientras que la fibra de algarroba (FNA), reduce ligera pero significativamente ambos parámetros. La HAD aumenta el volumen y peso fecales en relación a la celulosa y produce un volumen y peso fecales similares, a las mismas dosis, que la FNA, pero con unas concentraciones de butirato y polifenoles fecales un 30 y un 10%, respectivamente superiores en las ratas alimentadas con nuestra invención que en las alimentadas con dietas con fibra de algarroba (FNA) por lo que, como se ha descrito repetidamente por diferentes autores, la protección frente a la formación de compuestos mutágenos o carcinogénicos (moléculas electrofílicas) en los animales que consumen la HAD es superior a la de la fibra de algarroba (FNA).

[0014] Para comprobar sus efectos sobre los lípidos sanguíneos, se utilizaron 30 ratas jóvenes con hipercolesterolemia experimental (colesterol total 235 mg/dl), se hicieron 5 grupos de 10 ratas cada uno y se añadieron las siguiente fuentes de fibra en sus dietas:

Lote 1-10% celulosa
Lote 2-10% de fibra de algarroba (FNA)
Lote 3-10% de harina de algarroba (HAD)

[0015] A las tres semanas de tratamiento los niveles de colesterol sérico medios fueron:

Lote 1-285 mg/dl
Lote 2-165 mg/dl
Lote 3-112 mg/dl

[0016] Las conclusiones de este estudio pueden resumirse en lo siguiente:

Teniendo en cuenta que la celulosa utilizada no tuvo efecto en la colesterolemia y que nuestra invención (HAD) produjo, significativamente ($p<0.05$), la mayor reducción en las cifras de colesterol sérico en los animales, podemos concluir que nuestra invención tiene un efecto más marcado sobre la colesterolemia que la fibra natural de algarroba (FNA). Este efecto parece estar mediado por el mayor secuestro de sales biliares producido por la HAD.

[0017] Los porcentajes, temperaturas y otros factores adicionales asociados tanto al producto como al procedimiento que se han descrito podrán ser variables, siempre que sean accesorios y secundarios y no alteren la esencia de la patente que se ha descrito aquí.

REIVINDICACIONES

1. Harina de algarroba desnaturalizada, caracterizada porque comprende en % en peso:

2-15% de azúcares, 0.2-1.5% de ciclitoles (pinitol), 2-10% de ligninas, 10-30% de celulosas, 3-20% de hemicelulosas, 1-6% de pectinas, 25-55% de taninos condensados, 3-9% de proteína y menos de un 8% de agua.

2. Harina de algarroba desnaturalizada según la reivindicación 1, donde el contenido de azúcares es 3-10%.

3. Harina de algarroba desnaturalizada según la reivindicación 1 o 2, donde el contenido de ciclitoles es 0.3-1%.

4. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-3, donde el contenido de ligninas es 2-7%.

5. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-4, donde el contenido de celulosas es 15-28%.

6. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-5, donde el contenido de hemicelulosas es 3-9%.

7. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-6, donde el contenido de de pectinas es 2-5%.

8. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-7, donde el contenido de taninos condensados es 30-48%.

9. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-8, donde el contenido de proteína es 4-8%.

10. Harina de algarroba desnaturalizada según una de las reivindicaciones 1-9, donde el contenido de agua es inferior a 6%.

11. Procedimiento para obtener una harina según la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:

a) limpiar el fruto de algarroba entero;

b) trocear el fruto de algarroba;

c) separar las semillas de algarroba y la pulpa de algarroba troceada;

d) tostar la pulpa de algarroba entre 130 y 200 ºC;

e) extraer la pulpa de algarroba tostada con agua u otro solvente para extraer los azúcares y los taninos solubles en agua;

f) separar los componentes solubles en agua de la pulpa de algarroba extraída para producir un residuo insoluble en agua;

g) moler el residuo insoluble en agua en un fino polvo que comprende partículas, en el que el 90% de estas partículas tienen un tamaño de partícula por debajo de 250 μm;

h) eliminar el agua del residuo insoluble en agua;

i) secar el residuo insoluble en agua molido hasta un contenido de agua por debajo de un 8% en peso y;

j) tamizar el producto secado.

12. Procedimiento según la reivindicación 11, donde en la etapa b. la vaina de algarroba es troceada en trozos más pequeños que 3 cm.

13. Procedimiento según la reivindicación 11 o 12, donde la temperatura de tostado está entre 140-150 ºC.

14. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-13, donde el periodo de tiempo para el procedimiento de tostado es de 5-60 minutos.

15. Procedimiento según la reivindicación 14, donde el periodo de tiempo es de 10-20 minutos.

16. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-15, donde en la etapa e. la extracción se realiza en el rango de 5-80 ºC.

17. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-16, donde en la etapa e. el ratio de pulpa con el agua es 1:20 p/p.

18. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-17, donde en la etapa e. la extracción se realiza de 5 minutos a 24 horas.

19. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-18, donde en la etapa g. el 90% de partículas están por debajo de 150 μm.

20. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-19, donde entre las etapas g. and h. se repiten las etapas e. y f. al menos una vez.

21. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-20, donde en la etapa i. el secado se realiza a una temperatura que no supera los 140 ºC.

22. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11-21, donde el procedimiento se hace en continuo.

23. Uso de la harina según la reivindicación 1 en alimentos, suplementos dietéticos, piensos, alimentos para animales de compañía, y medicamentos humanos y animales.

24. Alimentos, suplementos dietéticos, piensos, alimentos para animales de compañía y medicamentos humanos y animales, que comprenden la harina según la reivindicación 1.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante únicamente es para comodidad del lector. Dicha lista no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO rechaza toda responsabilidad a este respecto.

Bibliografía no relativa a patentes citada en la descripción

• Pulido R ; Bravo L ; Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. J Agric Food Chem, 2000, vol. 48 (8), 3396-402 **[0003]**

• Pool-Zobel BL ; Adlercreutz H ; Glei M ; Liegibel UM ; Sittlingon J. ; Rowland I. ; Wahala K ; Rechkemmer G. Isoflavonoids and lignans have different potentials to modulate oxidative genetic damage in human colon cells). Carcinogenesis, 2000, vol. 21 (6), 1247-52 **[0003]**

• Perez R. ; Stevenson f. ; Jhonson J. ; Morgan M. ; Ericson K. ; Hubbard N.E. ; Morand L. ; Ruduch S. ; Kaztnelson S. Sodium butyrate upregulates Kupffer cells PGE-2 production and modulates immune function. J. Surg. Res., 1998, vol. 78, 1-6 **[0004]**

• Lim B.O. ; Yamada K. ; Nonaka M. ; Kuramoto Y. ; Hung P. ; Sugano M. Dietary fibres modulate indices of intestinal immune function in rats. J. Nutr., 1997, vol. 127, 663-7 **[0004]**

• Sowa Y; Sakai T. Butyrate as a model for ''gene-regulating chemoprevention and chemotherapy. biofactors, 2000, vol. 12 (1-4), 283-7 **[0004]**

• Perrin P ; Pierre F ; Patry Y ; Champ M ; Berreur M ; Pardal G ; Bomet F ; Meflah K ; Menanteau J. Only fibers promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats. Gut, 2001, vol. 48 (1), 53-61 **[0004]**

• Bates SH ; Jones RB ; Bailey CJ. Insulin-like effect of pinitol. Br J Pharacol, 2000, vol. 130 (8), 1944-48 **[0005]**

• Singleton V.L. ; Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic, 1965, vol. 16, 144-158 **[0008]**

• Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. Hagerman A.E. ; Zhao Y. ; Jonson S. Antinutrients and phytochemicals in foods. American Chemical Society, 209-222 **[0008]**