

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 186**

51 Int. Cl.:

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/305 (2006.01)

A23J 3/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2006 E 06739007 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2013 EP 1898723**

54 Título: **Fórmula para lactantes baja en lactosa parcialmente hidrolizada**

30 Prioridad:

01.06.2005 US 142544

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

17.04.2013

73 Titular/es:

**MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY (100.0%)
2400 WEST LLOYD EXPRESSWAY
EVANSVILLE, IN 47721-0001, US**

72 Inventor/es:

**RANGAVAJLA, NAGENDRA;
CHIANG, WIN-CHIN;
KHATIB, KHALED;
WYNSSEN, DAVID A.;
PUSKI, GABOR;
VANDERHOOF, JON y
BURNS, ROBERT A**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 401 186 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

Fórmula para lactantes baja en lactosa parcialmente hidrolizada

Campo de la invención

La presente invención se refiere a fórmulas para lactantes bajas en lactosa parcialmente hidrolizadas.

5 **Antecedentes**

La alergia a alimentos es un síndrome clínico inmunológicamente mediado que se desarrolla después de la ingestión de un producto alimenticio. La reacción adversa que acompaña a una alergia alimentaria es con frecuencia una reacción inmediata mediada por inmunoglobulina E (IgE) , conocida de otra manera como alergia de proteína de alimentos. Host, A. y otros, Dietary Products Used in Infants for Treatment and Prevention of Food Allergy, Arch. Dis. Child 81:80-84 (1999). Entre los síntomas de la alergia a la proteína de los alimentos figuran angioedema, urticaria, eczema, asma, rinitis, conjuntivitis, vómitos o anafilaxis.

10

La alergia a la leche de vaca es la alergia a la proteína de los alimentos más común en niños pequeños y se presenta en aproximadamente del 2 % al 3 % de todos los lactantes. Sampson, H.A., Food Allergy. Part 1: Immunopathogenesis and Clinical Disorders, J. Allergy Clin Immunol. 103: 717-728 (1999). Una posible explicación de la prevalencia de la alergia a la leche de vaca en los lactantes es que la proteína entera de leche de vaca es el primer y más común alérgeno de alimentos a los que se exponen los lactantes. Además, los lactantes pueden ser especialmente susceptibles a la alergia a la leche de vaca porque su mucosa intestinal tiene una permeabilidad para macromoléculas incompletamente digeridas mayor que los adultos. Moran, R., Effects of Prolonged Exposure in Partially Hydrolyzed Milk Protein, J. Pediatr. 121:S90-S4 (1992).

15

20

Si bien no se conoce tratamiento alguno que pueda curar completamente la alergia a la leche de vaca, puede ser posible evitar o aminorar la alergia a la leche de vaca y otras alergias en lactantes mediante el consumo de fórmulas de proteína hidrolizadas. Se ha demostrado que el consumo de fórmulas para lactantes que tienen proteínas extensamente hidrolizadas en vez de las fórmulas convencionales que tienen sólo proteínas enteras puede reducir el riesgo de futuras alergias en lactantes. Así, si un lactante tiene una historia familiar de alergias, el consumo de fórmulas de proteínas hidrolizadas puede disminuir el riesgo de que el lactante desarrolle una alergia en el futuro.

25

Las fórmulas de proteínas hidrolizadas se puede caracterizar como ampliamente hidrolizadas o parcialmente hidrolizadas. Las fórmulas para lactantes que contienen proteína ampliamente hidrolizada (EHF) están basadas en leche de vaca pero las proteínas han sido tratadas con enzimas para romper la mayoría de las proteínas que causan síntomas relacionados con alergias. Un ejemplo de una EHF comercialmente disponible es Enfamil® Nutramigen®. Es una fórmula para lactantes hipoalérgica basada en caseína para lactantes no prematuros que son sensibles a las proteínas enteras en fórmulas de leche de vaca y soja. Por otra parte, las fórmulas para lactantes que contienen proteína parcialmente hidrolizada (PHF) han sido tratadas con enzimas para romper sólo algunas proteínas de la leche.

30

35

Idealmente, cualquier fórmula para lactantes, incluidas las (PHF), debe simular tan exactamente como sea posible la leche humana. En la leche humana hay dos proteínas principales, proteína de suero y caseína. La proteína de suero es aproximadamente el 60 % de la proteína de la leche humana, mientras que la caseína es aproximadamente el 40 %. Lonnerdal, B., Biochemistry and Physiological Functions of Human Milk Proteins, Am. J. Clin. Nutr. 42:1299-1317(1985).

40

Además de estimular el contenido de proteína de la leche humana, una PHF no debe causar ni exacerbar dificultades de absorción de carbohidratos. El carbohidrato principal de la fórmula para lactantes basada en leche de vaca es la lactosa. La lactosa es un disacárido de glucosa y galactosa y se requiere la enzima lactasa para que el cuerpo digiera la lactosa. Si la lactasa, que está localizada en la membrana superficial de células epiteliales del intestino, no está presente en suficiente cantidad, el cuerpo puede ser incapaz de digerir completamente la lactosa.

45

Esta condición, que comúnmente se conoce como intolerancia a la lactosa, puede conducir a síntomas tales como hinchamiento abdominal, calambres y diarrea.

Una manera de evitar los efectos secundarios innecesarios de la intolerancia a la lactosa en lactantes es proporcionar una fórmula para lactantes baja en lactosa como suplemento nutricional o sustitutivo de la leche humana. Normalmente, una fórmula para lactantes baja en lactosa tiene un porcentaje pequeño de hidratos de carbono que comprende lactosa. El restante contenido de hidratos de carbono deriva de otra fuente, tal como sólidos de jarabe de maíz.

50

Se han considerado diferentes fórmulas para lactantes, pero ninguna ha proporcionado los beneficios combinados de la presente invención. Por ejemplo, la patente U.S. nº. 5.405.637, concedida a Martínez y otros se refiere a un hidrolizado parcial de proteína de leche y a una fórmula que lo contiene. La patente, sin embargo, no describe una

fórmula para lactantes que tenga un contenido de lactosa entre aproximadamente el 0 y el 60 %. Además, aunque la referencia describe un grado de hidrólisis entre aproximadamente el 6 y el 9 %, el hidrolizado de la referencia de Martínez no describe que tenga el peso molecular del hidrolizado de proteína empleado en la presente invención.

5 La patente U.S. nº. 6.777.391, concedida a Kratky, se refiere a una composición de fórmula para lactantes que tiene un bajo contenido de treonina. Si bien la referencia discute el uso de proteína de maíz y caseína, la proteína de maíz usada está modificada de manera que se ha eliminado el caseíno-glio-macropéptido (cGMP). Adicionalmente, la referencia no considera una fórmula para lactantes que tiene un hidrolizado parcial con el perfil particular de peso molecular del hidrolizado de proteína de la presente invención.

10 La patente U.S. nº. 6.162.472, concedida a Giffin et al. se refiere a una fórmula para lactantes constituida por caseína y proteína de maíz y que tiene un contenido de lactosa de menos del 20 %, pero no considera una fórmula de hidrolizado parcial.

15 La patente U.S. nº. 6.171.621, concedida a Braun et al., la patente U.S. nº. 6.863.918, concedida a Bindels et al., y la patente U.S. nº. 6.194.009, concedida a Kamarel et al., se refieren a varias fórmulas para lactantes y productos nutritivos basados en hidrolizados de proteína. Sin embargo, las patentes no consideran un suplemento o fórmula que tenga una relación de proteína de suero:caseína entre aproximadamente 50:50 y 70:30. Además, los hidrolizados parciales de las diversas patentes no consideran hidrolizados con el peso molecular empleado en la presente invención.

Sumario de la invención

20 En resumen, la presente invención está dirigida a una nueva fórmula para lactantes que comprende un componente carbohidrato que comprende aproximadamente del 0 % al 60 % de lactosa, porcentajes basados en el peso total de los hidrolizados presentes en la fórmula, y un componente de proteína de suero y caseína parcialmente hidrolizadas, siendo la relación de proteína de suero a caseína de entre aproximadamente 50:50 y 70:30, y en la que el hidrolizado de proteína tiene los péptidos esparcidos en un intervalo de distribución del peso molecular, en función de su masa molecular, que se muestra en la Tabla 1.

25 **Tabla 1**

Masa molar (en Daltons)	Distribución porcentual del peso molecular
<500	11-20
500-1000	25-38
1000-2000	27-30
2000-3000	8-16
3000-5000	3-10
>5000	2-11

30 Entre las diversas ventajas encontradas al usar la presente invención, la proteína de leche parcialmente hidrolizada tiene una composición de proteína similar a la de la leche humana, un sabor mejorado y propiedades emulsivas mejoradas. Además, la presente invención induce un menor efecto de cebado para la respuesta del anticuerpo IgG que la de la leche de vaca. Así, la presente invención puede tener un potencial inmunogénico reducido.

Descripción detallada de realizaciones preferentes

35 Se hará ahora detalladamente referencia a las realizaciones de la invención, uno o más de cuyos ejemplos se presentan seguidamente. Cada ejemplo se proporciona a modo de explicación de la invención, no de limitación de la invención. De hecho, los expertos en la técnica apreciarán que en la presente invención se pueden hacer diversas modificaciones y variaciones sin desviarse del alcance y el espíritu de la invención. Por ejemplo, los rasgos ilustrados o descritos como parte de una realización se pueden usar en otra realización para que resulte otra realización.

40 Así, se pretende que la presente invención cubra tales modificaciones y variaciones al igual que en el ámbito de las reivindicaciones anexas y sus equivalentes. Se discuten otros objetivos, rasgos y aspectos de la presente invención o resultan evidentes al considerar la detallada descripción que sigue. Ha de entenderse por parte de un experto en la técnica de cualificación normal que la presente descripción es sólo una descripción de realizaciones ejemplares,

y que no es limitativa de aspectos más amplios de la presente invención.

Definiciones

Tal como se usa aquí, el término "bajo en lactosa" significa un contenido en lactosa que se inferior al 100 %, incluido el 0 % de lactosa.

5 El término "grado de hidrólisis" significa la cuantía en que el péptido está descompuesto por una hidrólisis enzimática. La medida muestra el número de enlaces peptídicos específicos escindidos en la hidrólisis como porcentaje del número total de enlaces peptídicos específicos presente en la proteína entera.

El término "probiótico" significa un organismo que ejerce efectos beneficiosos sobre la salud del hospedador.

10 Tal como se usa aquí, el término "prebiótico" significa un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al hospedador por estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un número limitado de bacterias en el colon que puede mejorar la salud del hospedador.

El término "sujeto" significa cualquier mamífero, preferiblemente un ser humano.

Tal como se usa aquí, el término "lactante" significa un ser humano de menos de aproximadamente 1 año.

15 Tal como se usa aquí, el término "fórmula para lactantes" significa una composición que satisface los requerimientos nutritivos de un lactante sustituyendo leche humana. En los EE.UU., el contenido de una fórmula para lactantes está dictado por las reglas expuestas en las Secciones 100, 106 y 107 de 21 C.F.R. Estas reglas definen los niveles de macronutrientes, vitaminas, minerales y otros ingredientes en un esfuerzo para estimular las propiedades nutritivas y otras de la leche humana.

Invención

20 De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto una nueva fórmula para lactantes. La fórmula para lactantes tiene un contenido bajo de lactosa y comprende una mezcla parcialmente hidrolizada de caseína y proteína de suero. El hidrolizado parcial de proteína de la fórmula para lactantes tiene una distribución específica y singular del peso molecular que da por resultado un producto que es distinto del de la de la técnica anterior.

25 La presente invención proporciona una relación de proteína:caseína que es similar a la encontrada en la leche de pecho humana. En una realización particular, el relación de proteína de suero:caseína es de aproximadamente 50:50 y 70:30. En otra realización la relación de caseína:proteína de suero es de 60:40.

30 La proteína de suero usada en la presente invención puede derivar de cualquier fuente conocida en la técnica. En una realización, la proteína de suero puede proceder de un suero en bruto obtenido de la fabricación de queso tierno, de concentrado de proteína de suero (WPC) obtenido por ultrafiltración (suero UF), o por intercambio iónico y/o electroforesis (suero ED), o de un aislado de suero que ha sido tratado para reducir el contenido de lactosa del suero.

La caseína usada en la presente invención también puede proceder de cualquier fuente conocida en la técnica. Por ejemplo, la caseína puede ser caseína ácida o sólidos de leche no grasa (NFM).

35 La proteína de suero y la caseína se pueden diluir o reconstituir en soluciones que contienen aproximadamente entre el 20 % y el 25 % de sólidos en total, y entre el 40 % y el 50 % de proteína sobre base seca.

40 En la presente invención, el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 0 % y el 60 % de lactosa. En otra realización la presente invención, el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 15 % y el 55 % de lactosa. En otra realización más de la presente invención, el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 20 % y el 30 % de lactosa. En una realización particular de la invención, el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 1 % y el 25 % de lactosa. En estas realizaciones, la fuente remanente de carbohidratos puede ser cualquier fuente de carbohidratos conocida en la técnica, tal como lactosa, glucosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, sacarosa, almidón, sólidos de jarabe de arroz, y similares. En una realización particular, el componente carbohidrato comprende aproximadamente el 25 % de lactosa y aproximadamente el 75 % de sólidos de jarabe de maíz.

45 La lactosa se puede añadir a la fórmula para lactantes o se puede presentar naturalmente en los componentes de la fórmula para lactantes. En una realización de la invención, la lactosa está presente naturalmente en el hidrolizado seco. En esta realización, entre aproximadamente el 30 % y el 70 % del hidrolizado seco puede estar constituido por carbohidratos. En una realización particular, aproximadamente el 50 % del hidrolizado seco puede estar constituido por carbohidrato.

50 En una realización de la invención, el contenido de lactosa puede ser del 0 %. En esta realización, el hidrolizado puede ser tratado usando cualquier procedimiento conocido en la técnica para eliminar su contenido de lactosa. Alternativamente, se pueden usar ingredientes de proteína de leche que están exentos de lactosa para preparar la

fórmula para lactantes.

En la presente invención, las proteínas se hidrolizan usando una enzima proteolítica, Proteasa N. La Proteasa N "Amano" es adquirible comercialmente en Amano Enzyme U.S.A. Co., Ltd, Elgin Il. La Proteasa N es un preparado de enzima proteolítica que deriva de la especie bacteriana *Bacillus subtilis*. El polvo de proteasa se especifica como que "no es de menos de 150.000 unid./g", lo que significa que una unidad de Proteasa N es la cantidad de enzima que produce un equivalente de aminoácido equivalente a 100 microgramos de tirosina durante 60 min a un pH de 7,0. Para producir la fórmula para lactantes de la presente invención, la Proteasa N se puede usar a niveles de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 1,0 % en peso del total de proteína que se hidroliza.

La hidrólisis de la proteína por la Proteasa N normalmente se realiza a una temperatura de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 60 °C. La hidrólisis transcurre en un período de tiempo que da un grado de hidrólisis entre aproximadamente el 4 % y el 10 %. En una realización particular, la hidrólisis se realiza durante un tiempo que conduce a la obtención de un grado de hidrólisis entre aproximadamente el 6 % y el 9 %. En otra realización, la hidrólisis se realiza durante un período de tiempo que produce un grado de hidrólisis de aproximadamente el 7,5 %. Este nivel de hidrólisis puede suponer una duración entre aproximadamente media hora y aproximadamente 3 horas.

Durante la hidrólisis se debe mantener un pH constante. En el procedimiento de la presente invención, el pH se ajusta y se mantiene entre aproximadamente 6,5 y 8. En una realización particular, el pH es mantiene a aproximadamente 7,0.

Con el fin de mantener el pH óptimo de la solución de proteína de suero, caseína y Proteasa N, se puede usar una solución cáustica de hidróxido sódico o hidróxido potásico para ajustar el pH durante la hidrólisis. Si se usa hidróxido sódico para ajustar el pH, se debe controlar la cantidad de hidróxido sódico añadida a la solución al nivel que comprenda menos de aproximadamente el 0,3 % del total de sólidos en el hidrolizado de proteína acabado. También se puede usar una solución de hidróxido potásico al 10 % para ajustar el pH de la solución al valor deseado, bien antes de añadir la enzima o durante el proceso de hidrólisis con el fin de mantener el pH óptimo.

La cantidad de solución cáustica añadida a la solución durante la hidrólisis de proteína se debe controlar con un dispositivo de pH constante o añadiendo continua y proporcionalmente la solución cáustica. El hidrolizado se puede preparar mediante procesos convencionales por lotes o por procedimientos continuos.

Para asegurar mejor la calidad consistente del hidrolizado parcial de caseína, el hidrolizado se somete a desactivación de la enzima para finalizar el proceso de hidrólisis. La etapa de desactivación de la enzima puede consistir en incluir un tratamiento térmico de desactivación a una temperatura de aproximadamente 82 °C durante aproximadamente 10 min. Alternativamente, la enzima se puede desactivar calentando la solución a una temperatura de aproximadamente 92 °C durante aproximadamente 5 s. Finalizada la desactivación de la enzima, se puede almacenar el hidrolizado en estado líquido a una temperatura inferior a 10 °C.

En una realización de la presente invención, el hidrolizado de proteína parcial líquido hecho de acuerdo con los procedimientos descritos aquí se puede usar tal como es y mezclarlo con otros ingredientes para preparar una fórmula para lactantes. Alternativamente, el hidrolizado parcial se puede producir en forma de polvo por secado por atomización del hidrolizado líquido. El hidrolizado secado por atomización se puede incorporar luego a una fórmula para lactantes. En otra realización, el hidrolizado parcial líquido se puede concentrar por evaporación y luego secar por atomización. Nuevamente, el hidrolizado secado por atomización se puede incorporar a una fórmula para lactantes. Se puede formular una fórmula para lactantes que tiene las proteínas parcialmente hidrolizadas descritas usando cualquiera de los procedimientos de formulación de fórmulas para lactantes conocidas en la técnica.

La fórmula para lactantes de la presente invención puede ser nutritivamente completa y normalmente contiene tipos y cantidades adecuadas de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. La cantidad de lípidos o grasa normalmente puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 7g/100 kcal. Las fuentes de lípidos pueden ser cualesquiera de las conocidas en la técnica, incluidos aceites vegetales tales como aceite de palma, aceite de haba de soja, oleína de palma, aceite de coco, aceite de triglicéridos de cadena mediana, aceite de girasol alto en oleico, aceite de alazor alto en oleico y similares. La cantidad de proteína puede variar normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 g/100 kcal. La cantidad de carbohidratos normalmente puede variar de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 g/100 kcal.

La fórmula para lactantes puede incluir un probiótico. En esta realización será aceptable cualquier probiótico conocido en la técnica. En una realización particular, el probiótico se selecciona entre el grupo constituido por *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.

En otra realización, la fórmula para lactantes puede contener un probiótico o varios. En esta realización será aceptable cualquier probiótico conocido en la técnica. Entre los probióticos de la presente invención pueden figurar lactulosa, galactooligosacáridos, fructooligosacáridos, oligosacáridos de soja, lactosacarosa, xilooligosacáridos y gentiooligosacáridos.

En otras realizaciones de la presente invención, la fórmula para lactantes puede contener otros componentes tales como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA). Entre los LCPUFA adecuados figuran, no exclusivamente, ácido α -linoleico, ácido γ -linoleico, ácido linoleico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y ácido docosahexaenoico (DHA). En una realización, la fórmula para lactantes contiene DHA.

5 En otra realización, la fórmula para infantes contiene ARA. En otra realización más, la fórmula para lactantes contiene DHA y ARA.

En una realización, a la fórmula para lactantes de la presente invención se incorporan DHA y ARA. En esta realización, la relación ponderal ARA:DHA normalmente es de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 9:1. Alternativamente, esta realización puede ser de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 4:1. En otra alternativa, la relación puede ser de aproximadamente 2:3 a aproximadamente 2:1. En una realización particular, la relación es aproximadamente de 2:1.

10 La cantidad eficaz de DHA en una realización de la presente invención normalmente es de aproximadamente 3 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de la invención, la cantidad de DHA es de aproximadamente 6 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad es de aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad es de aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal por día.

15 La cantidad de DHA en fórmulas para lactantes de uso con la presente invención normalmente varía de aproximadamente 5 mg/100 kcal a aproximadamente 80 mg/100 kcal. En una realización de la presente invención, la cantidad de DHA varía de aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 50 mg/100 kcal y, en otra realización, varía de aproximadamente 15 mg/100 kcal a aproximadamente 20 mg/100 kcal. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de DHA es de aproximadamente 17 mg/100 kcal.

20 La cantidad eficaz de ARA en una realización de la presente invención normalmente es de aproximadamente 5 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de la invención, la cantidad de ARA varía de aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 120 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad varía de aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 90 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad es de aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal por día.

25 La cantidad de ARA en fórmulas para lactantes de uso con la presente invención normalmente varía de aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 100 mg/100 kcal. En una realización de la presente invención, la cantidad de ARA varía de aproximadamente 15 mg/100 kcal a aproximadamente 70 mg/100 kcal. En otra realización, la cantidad de ARA varía de aproximadamente 20 mg/100 kcal a aproximadamente 40 mg/100 kcal. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de ARA es de aproximadamente 34 mg/100 kcal.

30 DHA y ARA se pueden suplementar en la presente invención usando procedimientos estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, DHA y ARA se pueden añadir al suplemento o fórmula reemplazando una cantidad equivalente de un aceite, tal como aceite de girasol alto en oleico, normalmente presente en la fórmula. En otro ejemplo, los aceites que contienen DHA y ARA se pueden añadir al suplemento o fórmula reemplazando una cantidad equivalente del resto de la mezcla global de grasas normalmente presente en la fórmula sin DHA y ARA.

35 La fuente de DHA y ARA puede ser cualquier fuente conocida en la técnica. En una realización de la presente invención, las fuentes de DHA y ARA son aceites de células individuales tales como los indicados en las patentes U.S. nº. 5.374.657, nº. 5.550.158 y nº. 5.397.591. Sin embargo, la presente invención no está limitada a sólo tales aceites. DHA y ARA pueden estar en forma natural o refinada.

40 En una realización, la fuente de DHA y ARA está sustancialmente exenta de ácido eicosapentaenoico (EPA). Por ejemplo, en una realización de la presente invención la fórmula para lactantes contiene menos de aproximadamente 16 mg de EPA/100 kcal; en otra realización menos de aproximadamente 10 mg de EPA/100 kcal; y en otra realización más menos de aproximadamente 5 mg de EPA/100 kcal. Una realización particular no contiene sustancialmente EPA. Otra realización está exenta de EPA en la que en la fórmula no están presentes incluso cantidades rastro de EPA.

45 La fórmula para lactantes de la presente invención tiene una distribución particular del peso molecular. Esta distribución del peso molecular ha demostrado calidades aceptables de emulsión y sabor en comparación con otros hidrolizados parciales encontrados en la técnica anterior. Además, la distribución del peso molecular ha demostrado inducir un efecto menor sobre el anticuerpo IgG del suero que el de la proteína de leche entera.

50 En una realización de la presente invención, el hidrolizado parcial de proteína preparado de acuerdo con los procedimientos descritos aquí se puede incorporar en un suplemento nutritivo. El hidrolizado parcial de proteína se

puede usar en forma líquida y mezclarlo con otros ingredientes para obtener un suplemento nutricional líquido. Alternativamente, el hidrolizado parcial de proteína se puede secar por atomización e incorporarlo a un suplementos nutricional en polvo. Se puede formular un suplementos nutricional que tiene las proteínas parcialmente hidrolizadas descritas usando cualquiera de los procedimientos de formulación de suplementos nutricionales conocidos en la técnica.

Se ha usado la cromatografía de exclusión molecular (SEC) para determinar la distribución del peso molecular de los péptidos hidrolizados creados por el procedimiento de hidrólisis ahora presentado. Específicamente, se pesó una cantidad suficiente de la fórmula para lactantes en polvo para obtener 0,5 g de proteína en un tubo de centrífugadora cónico de 50 ml. Se añadió agua para que el volumen en el tubo fuera de 45 ml. La mezcla se puso en una mezcladora Sarstedt D-5223 y se mezcló durante 1 h. Después de mezclar, se preparó una solución de proteína al 1 % añadiendo al tubo otros 5 ml de agua. Se preparó una solución patrón y se mezcló también durante 1 h.

Por separado se añadieron 14,91 g de cloruro potásico (KCl) a un vaso de precipitados de 1000 ml. El KCl se disolvió añadiendo 700 ml de agua al vaso. Luego se añadieron a la solución de KCl (eluyente) 250 ml de acetonitrilo y 1,0 ml de ácido trifluoroacético. El pH se ajustó a 3,0 usando una solución de K_2HPO_4 0,2M.

Se llenó una botella de reactivo de HPLC y la botella se lavó con eluyente, reservando aproximadamente 50 ml para dilución de muestras y patrones. Los conductos de la bomba Hitachi L-6200 A Intelligent Pump se purgaron con eluyente y se equilibraron las columnas con eluyente durante una hora.

Después de mezclar las mezclas durante una hora, se pipetearon a los tubos de vidrio de tapón roscado 0,5 ml de cada muestra. Se cerraron los tubos y se mezclaron por inversión cuatro veces. Las muestras se centrifugaron luego durante 5 min a 200 X g.

Mientras que las muestras estaban en la centrifugadora, los patrones 1-5 se diluyeron con eluyente (800 ul+3200 ul). Aproximadamente se pipeteó 1 ml de cada patrón a cada uno de dos viales de la autotoma de muestra y se cerraron.

La capa superior (acuosa) de las muestras centrifugadas 1-10 se diluyó con eluyente (1000 ul+900 ul). Los viales se cargaron en la bandeja del cargador de muestras como sigue: blanco, patrón, muestras y segundo patrón. La bandeja se puso en la autotoma de muestra Hitachi. Se introdujo el número total de viales a ensayar en el programa del cargador de muestras usando las llaves de la parte frontal del cargador de muestras y se ensayaron las muestras. Los resultados indicaron el perfil del peso molecular de la proteína.

En una realización, el hidrolizado parcial de la invención tiene un peso molecular medio de 2.000, siendo el intervalo de distribución del peso molecular el mostrado en la anterior Tabla 1.

Tabla 2

Masa molar (en Daltons)	Distribución porcentual del peso molecular
<500	17
500-1000	35,1
1000-2000	30,9
2000-3000	9,6
3000-5000	4,2
>5000	2,8

Los ejemplos siguientes describen varias realizaciones de la presente invención. Un experto en la técnica podrá identificar otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones después de considerar la memoria o la práctica de la invención de acuerdo con lo descrito aquí. La memoria junto con los ejemplos debe considerarse según se pretende sólo a modo de ejemplo, siendo las reivindicaciones que siguen a los ejemplos las que indican el alcance y el espíritu de la invención. En los ejemplos, todos los porcentajes son en peso, a no ser que se indique lo contrario.

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra un procedimiento para producir un hidrolizado parcial de proteína. Inicialmente se entremezclaron 60,3 kg de sólidos no de leche (polvo de leche) y 37,4 kg de concentrado de proteína de suero (60 %) en un tanque que contenía agua a 54 °C. La suspensión tenía un contenido total de sólidos entre el 20 % y el 23 %. El pH de la suspensión se midió luego. Se añadieron a la suspensión hidróxido sódico e hidróxido potásico para ajustar el pH de la suspensión a 7,0. Después de ajustar el pH, se añadieron a la suspensión 0,5 kg de la enzima Amano N. Después de añadir Amano N a la suspensión, se ajustó continuamente el pH de la solución a pH 7,0 usando hidróxido sódico e hidróxido potásico. La cantidad total de hidróxido sódico añadido a la suspensión fue 0,3 kg. La cantidad total de hidróxido potásico añadido a la suspensión fue 1,5 kg.

Se dejó que la hidrólisis transcurriera durante 90 min, tiempo que empezó con la adición a la suspensión de la enzima Amano N. Al final de los 90 min se trató térmicamente la suspensión para desactivar la enzima. El tratamiento térmico consistió en elevar la temperatura de la suspensión a 82 °C durante 10 min. El grado de hidrólisis obtenido en este ejemplo fue de entre el 6 % y el 9 %. La suspensión se enfrió luego y se secó por atomización obteniéndose un hidrolizado en polvo.

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra una realización de ingredientes que se pueden usar para preparar la fórmula para lactantes de la presente invención.

Tabla 3: Receta de una realización del hidrolizado

Ingrediente	Kg por 100 kg de hidrolizado seco
Sólidos de leche no grasa	60,3
Concentrado de proteína de suero	37,4
Hidróxido potásico	1,5
Enzima, Amano N	0,5
Hidróxido sódico	0,3

A los ingredientes de la Tabla 3 se pueden añadir vitaminas. Entre los ejemplos de vitaminas que se pueden añadir a la fórmula figuran vitamina A, vitamina D₃, vitamina E, vitamina K₁, tiamina, riboflavina, hidrocloreto de vitamina B₆, vitamina B₁₂, niacinamida, ácido fólico, pantotenato cálcico, biotina y ácido ascórbico.

A los ingredientes de la Tabla 3 también se pueden añadir minerales. Entre los ejemplos de minerales que se pueden añadir a los ingredientes de la fórmula figuran fosfato cálcico, glicerofosfato cálcico, gluconato cálcico, citrato sódico, cloruro potásico, citrato potásico, fosfato potásico, fosfato magnésico, sulfato ferroso, sulfato de zinc y sulfato cúprico.

Ejemplo 3

Este ejemplo ilustra el efecto de cebado para la respuesta del anticuerpo IgG del hidrolizado parcial de proteína obtenido en el Ejemplo 1. Se estudiaron 320 lactantes en siete consultorios pediátricos localizados en los EE.UU. Los sujetos fueron lactantes sanos nacidos al término de gestaciones normales, con los que se empezó a trabajar poco tiempo después del nacimiento.

Los lactantes cuya madre indicó la intención de alimentar a pecho se asignaron al grupo A. Los lactantes cuya madre eligió no alimentar a pecho se asignaron al azar al modo de doble ciego, bien al grupo B o al C. Los lactantes del grupo B recibieron una fórmula para lactantes que comprende hidrolizado parcial de proteína obtenido en el Ejemplo 1. Los lactantes del grupo C recibieron una fórmula basada en leche predominantemente de proteína de suero, disponible comercialmente. Ambas fórmulas contenían las mismas cantidades de proteína, carbohidratos y grasa.

Los lactantes se evaluaron a intervalos de un mes hasta los 4 meses de edad en todos los sitios, y hasta 6 y 8 meses en tres de los siete sitios. Se extrajo sangre al admitir los lactantes y a los 3, 6 y 8 meses de edad para la detección de anticuerpos de suero de la leche. Los anticuerpos anti-proteína de la leche IgE se cuantificaron por ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima de biotina-avidina; los anticuerpos anti-proteína de la leche IgG se determinaron usando el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima descrito en Burks et al., Burks, A.W. et al.

Antibody Response to Milk Protein in Patients with Protein Intolerance Documented by Challenge, J. Allergy Clin. Immunol. 85:921-927 (1990). Se extrajo sangre adicional para medir niveles de suero de ferritina y hemoglobina y determinar hematocrito en los lactantes que se examinaron a los 8 meses de edad.

5 La concentración media en suero de anticuerpos IgG para la leche era comparable en todos los grupos en el momento de admisión al estudio. Sin embargo, los incrementos de anticuerpos IgG de suero para la leche fueron significativamente mayores en el grupo de lactantes a los que se dio la fórmula C que para los del grupo alimentado con leche de pecho (grupo A) o la fórmula B. La menor concentración de anticuerpos IgG para leche en el grupo B indica un mayor efecto de cebado de proteína de leche de vaca entera para respuestas de anticuerpo IgG (grupo C). Puede haber así un potencial inmunogénico reducido de las proteínas de leche parcialmente hidrolizadas del grupo B.

10 En el momento de la inscripción, no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos en cuanto a las concentraciones medias en suero de anticuerpos IgG para la leche. Además no había diferencias significativas en los niveles de IgG entre los regímenes de alimentación a lo largo del ensayo. Los valores medios de ferritina, hematocrito y hemoglobina estaban dentro del intervalo normal a los 8 meses de edad, y no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos.

Ejemplo 4

Este ejemplo ilustra una realización particular de la fórmula para lactantes suplementada con el preparado de proteína parcialmente hidrolizada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. En este ejemplo, la lactosa comprende aproximadamente el 23,5 % del componente carbohidrato.

20 **Tabla 4: Información sobre nutrientes para la fórmula para lactantes**

Ingrediente	Por 100 kg
Sólidos de jarabe de maíz	44,256 kg
Sólidos de NFM y WPC parcialmente hidrolizados	26,865 kg
Mezcla de grasa	26,628 kg
25 ARA de célula simple y mezcla de aceite DHA	0,709 kg
Carbonato cálcico	0,400 kg
Fosfato cálcico tribásico	0,200 kg
Cloruro potásico	0,200 kg
Cloruro de colina	0,134 kg
Fosfato magnésico	0,100 kg
L-carnitina	0,010 kg
Ácido ascórbico	162,900 g
30 Inositol	39,887 g
Taurina	33,875 g
Acetato de tocoferol	25,278 g
Vitamina A	7,871 g
Niacinamida	6,475 g
Vitamina K ₁	5,454 g
Pantotenato cálcico	3,299 g
Vitamina B ₁₂	2,122 g
35 Trituración de biotina	1,608 g
Vitamina D ₃	0,969 g
Riboflavina	0,755 g
HCl de tiamina	0,601 g
HCl de pirodoxina	0,518g
Ácido fólico	0,122 g
Sulfato ferroso, heptahidratado	49,600 g
Lactosa	138,017 g
40 Sulfato de zinc	16,422 g
Selenito sódico	0,018 g
Sulfato cúprico	1,688 g
Sulfato de manganeso	0,239 g

45 En este ejemplo, la lactosa natural está presente en los sólidos de NFM y WPC parcialmente hidrolizados. Más específicamente, el 50 % de sólidos de NPC y WPC parcialmente hidrolizados constituye lactosa. Así, la cantidad de

lactosa presente en esos sólidos de NFM y WPC es de aproximadamente 13,433 kg. Hay 138,017 g más de lactosa presente en la composición. Esto totaliza aproximadamente 13,571 kg de lactosa en la fórmula de lactantes.

5 En la fórmula para lactantes están presentes 44,256 kg de sólidos de jarabe de maíz. El contenido total de hidratos de carbono es de 57,827 kg, comprendiendo la lactosa sólo 13,571 kg de este total. Por tanto, la lactosa comprende aproximadamente 23,5 % del contenido total de hidratos de carbono de la fórmula para lactantes.

10 Todas las referencias citadas en esta memoria, incluidos sin limitación todos los artículos, publicaciones, patentes, solicitudes de patentes, presentaciones, textos, reseñas, folletos, libros, comunicaciones por correo electrónico, artículos en revistas y periódicos y similares se incorporan en esta memoria por referencia en su totalidad. La discusión de las referencias se hace aquí meramente para resumir los asertos hechos por los autores y no se hace asunción alguna de que una referencia constituya técnica anterior. Los solicitantes se reservan el derecho a comprobar la precisión y la pertinencia de las referencias citadas.

REIVINDICACIONES

1. Una fórmula para lactantes que comprende:
 5 un componente carbohidrato que comprende aproximadamente del 0 % al 60 % de lactosa, en relación al peso total de carbohidratos presentes en la fórmula para lactantes; y
 un componente proteínico que comprende proteína de suero de leche y caseína parcialmente hidrolizadas, en el que la relación de proteína de suero de leche a caseína es de entre aproximadamente 50:50 y 70:30, y en el que el hidrolizado de proteína tiene los péptidos esparcidos en el siguientes intervalo de distribución del peso molecular en
 10 función de su masa molar:

Masa molar (en Daltons)	Distribución porcentual del peso Molecular
<500	11-20
500-1000	25-38
1000-2000	27-30
2000-3000	8-16
3000-5000	3-10
>5000	2-11

2. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el hidrolizado de proteína tiene los péptidos distribuidos en el siguiente intervalo de distribución del peso molecular en función de su masa molar:

15

Masa molar, (en Daltons)	Distribución porcentual del peso molecular
<500	17
500-1000	35,1
1000-2000	30,9
2000-3000	9,6
3000-5000	4,2
>5000	2,8

3. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la relación de proteína de suero de leche:caseína es de aproximadamente 60:40.
4. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 15 % y el 55 % de lactosa.
5. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el componente carbohidrato comprende entre aproximadamente el 20 % y el 30 % de lactosa.
6. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el componente carbohidrato comprende aproximadamente el 25 % en peso de lactosa y aproximadamente 75 % en peso de sólidos de jarabe de maíz.
7. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el grado de hidrólisis del componente proteínico es de entre aproximadamente el 4 % y el 10 %.
8. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el grado de hidrólisis del componente proteínico es de entre aproximadamente el 6 % y el 9 %.

25

9. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fórmula para lactantes adicionalmente comprende al menos un probiótico.
- 5 10. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fórmula para lactantes adicionalmente comprende al menos un prebiótico.
11. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fórmula adicionalmente comprende un LCPUFA.
12. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el LCPUFA comprende DHA o ARA.
13. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el LCPUFA comprende DHA y ARA.
- 10 14. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fórmula está en forma de polvo.
15. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fórmula está en forma de líquido.