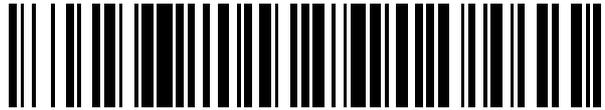


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 211**

51 Int. Cl.:

A23B 4/20

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2008 E 08875583 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 2351493**

54 Título: **Composición a base de ácido linoleico conjugado para enlatados que comprenden al menos un túnido**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.12.2015

73 Titular/es:

**SALICA, INDUSTRIA ALIMENTARIA, S.A.
(100.0%)
Polígono Landabaso s/n
48370 Bermeo, Bizkaia, ES**

72 Inventor/es:

**PAGAZAURTUNDUA ZABALA, MARTA;
AYO MARTÍNEZ, JOSUNE y
SÁNCHEZ-ALONSO, ISABEL**

74 Agente/Representante:

EZCURRA ZUFIA, Maria Antonia

ES 2 555 211 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).

COMPOSICION A BASE DE ACIDO LINOLEICO CONJUGADO PARA ENLATADOS QUE
COMPREDEN AL MENOS UN TÚNIDO

DESCRIPCION

5

OBJETO DE LA INVENCION

Es objeto de la presente invención una composición de los dos isómeros bioactivos del ácido linoleico conjugado (cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12) al 50:50 en una proporción del 7.5% al 15% en aceite de oliva, que permanece estable tras el proceso de esterilización y almacenamiento en los productos enlatados que comprenden un túnido, conservando sus propiedades sobre la reducción de la grasa corporal y activador del metabolismo lipídico.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El ácido linoleico (ácido 9,12-octadecadienoico) es un ácido graso de 18 átomos de carbono y dos insaturaciones (o dobles enlaces) situadas en las posiciones 9 y 12 respectivamente. Las cadenas C1-C8 y C13-C18 están en posición *cis* respecto al sistema de dobles enlaces.

15

El ácido linoleico es un ácido graso esencial, muy frecuente en los aceites vegetales.

El ácido linoleico conjugado, que en la presente memoria se va a abreviar como CLA, es un nombre genérico para un grupo de isómeros del ácido linoleico. De la gran cantidad de isómeros del CLA, sobretodo el *cis-9*, *trans-11*, y el *trans-10*, *cis-12* son los principales responsables de los efectos beneficiosos sobre el organismo, con propiedades sobre la reducción de la grasa corporal y activador del metabolismo lipídico, y que en la presente memoria se van a denominar isómeros bioactivos del CLA.

20

Whigham y colaboradores (2007) concluyeron que el CLA, administrado en dosis de 3,2 g/día, era efectivo ya que produce una disminución significativa de la grasa corporal en humanos.

25

Gaullier y colaboradores (Gaullier et al. , 2004) demostraron que los preparados de CLA altamente enriquecidos en cis-9, trans-10, cis-12 al 50:50 constituyen la preparación adecuada para el consumo humano en términos de eficacia en la reducción de la grasa corporal. La dosis efectiva estimada fue de 1,7g -3.4g de estos isómeros del CLA por día.

30

La mayor fuente de CLA en el hombre se debe a la leche y sus derivados. Otras fuentes a través de la dieta son la carne de rumiante y algunos aceites vegetales. Los cambios producidos durante los últimos años en la alimentación animal (consumo de piensos en lugar de pastos), combinados con las tendencias actuales de un menor consumo de leche y productos lácteos, han reducido drásticamente la cantidad de CLA adquirida por los humanos a través de la dieta.

35

La ingesta media de CLA en la población depende en gran medida del tipo de alimentación que se siga, dependiendo si se incluyen aquellos alimentos que lo contienen. Así por ejemplo, la ingesta media en la población europea es de 350-430 mg/día y en la población estadounidense de 150-200 mg/día.

Todo esto conduce a afirmar que, para poder esperar un efecto de reducción de grasa corporal en el organismo y un aumento del metabolismo lípido, que puedan contribuir a la lucha contra la obesidad, es interesante hacer un aporte extra de CLA a través de la dieta.

Por lo tanto, resulta de gran interés la incorporación de CLA a la dieta mediante un vehículo apropiado.

40

El problema que surge a la hora de incorporar los isómeros bioactivos en la dieta a través de alimentos que los incluyan, es que hasta ahora no era posible conseguir una composición en la cual, tras el procesamiento a elevadas temperaturas al que se ven sometidos ciertos alimentos, los isómeros bioactivos permanezcan estables sin ser degradados.

Existen diferentes estudios sobre la estabilidad de los isómeros del CLA. Yurawecz, Hood, Mosoba, Roach y Yu (1995), demostraron que el CLA en estado puro se degrada rápidamente a furano (ácidos grasos) cuando es calentado en presencia de aire.

5 Otros estudios sobre la estabilidad de los isómeros del CLA en forma de ácidos grasos libres han puesto de manifiesto, utilizando una combinación de Cromatografía líquida de Gases (GLC) y Ag-HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución e ión de plata) que el CLA es inestable.

10 En el estudio de Yang et al. (2000), se sometieron 12 isómeros de CLA durante 110 h a 50° C en el aire para ver su efecto de estabilidad oxidativa, utilizando la anteriormente mencionada técnica de detección: GLC y Ag-HPLC. Los resultados concluyeron que el CLA en forma libre era extremadamente inestable, similar al ácido docosahexanoico (Chen et al., 1997) y que posee una tasa de oxidación considerablemente más elevada que la del ácido linoleico y el ácido araquidónico.

De hecho, Yurawecz et al., (1995) describieron que el CLA cuando era oxidado en el aire era rápidamente descompuesto a los ácidos grasos furanos.

15 Los 4 isómeros *c,c*-CLA fueron los más inestables seguidos de otros 4 isómeros *c,t*-CLA. A diferencia de los otros 4 isómeros *t,t*-CLA que fueron relativamente estables bajo las mismas condiciones experimentales. En total, más del 80% fue oxidado al cabo de 110 h en el aire a 50°C.

20 Minemoto et al. (2003) demostraron que los dos isómeros bioactivos del CLA son más susceptibles a la oxidación que el ácido linoleico (LA) y similar al ácido docosahexanoico (DHA). También demostraron que el CLA es extremadamente inestable tanto en forma de ácido graso libre (FFA) como en forma de triacilglicerol (TAG). El estudio se realizó a diferentes temperaturas 50.80°C para ambos isómeros con el resultado de que el isómero 10t, 12c se oxidó más rápidamente que el 9c, 11t.

Con este estudio se demostró que si se incorpora el CLA a un alimento y se somete al procesado, el CLA sería degradado, perdiendo, en consecuencia, sus propiedades beneficiosas sobre la reducción de grasa corporal.

25 Además de la influencia del tratamiento térmico durante el procesado y del periodo de almacenamiento sobre la estabilidad del CLA, hay estudios que demuestran que el comportamiento del CLA depende adicionalmente y está condicionado por la matriz alimentaria en la que se encuentra, ya que existen interacciones entre los componentes presentes en el alimento que hacen que el CLA se degrade.

30 Cuando fueron añadidos isómeros del CLA a una emulsión cárnica (Hur et al., 2003), el contenido en CLA total aumentó, ahora bien, el efecto del almacenamiento en frío (4°C) durante 14 días en una emulsión cárnica con CLA apenas tuvo efecto en la concentración del CLA. En cuanto a su color mejoró, por la inhibición de la oxidación lipídica y de la mioglobina, lo que se corroboró con un descenso en los niveles de TBARS en las muestras con CLA.

35 Sin embargo, en leches enriquecidas en CLA, la pasteurización y la homogenización (HTST) provocó una disminución significativa de los isómeros 9c, 11t, y otros isómeros menores (Campbell et al., 2003). Después de mantenerse en refrigeración durante 2 semanas los isómeros 9c, 11 t se mantuvieron estables. Pero al cabo de 3 semanas de refrigeración, tanto los isómeros 9c, 11t como los 10c, 12t disminuyeron significativamente. En cuanto a las características sensoriales, las leches enriquecidas en CLA mostraron un sabor a hierba/verdura, pero añadiéndole aroma a chocolate o fresa se consigue enmascarar. No se observaron diferencias con la muestra control en la viscosidad, y la leche tiene un color menos blanco.

40 Es conocido en el estado de la técnica, además de los documentos ya mencionados, los siguientes:

- US200711292 A1 el cual da a conocer estructuras de mezclas de lípidos.
- 45 - MARTIN D ET AL "Sustitución parcial de grasa de cerdo por aceite de oliva conjugado con en el ácido linoleico en Patés de hígado: efecto sobre las características fisicoquímicas y estabilidad oxidativa" MEAT SCIENCE 80 (2) 496-504-2008 DEPARTMENT OF FOOD SERVICE SCIENCE, UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA, FACULTAD DE VETERINARIA. XP002546135
- HA Y L ET AL: "Inhibición de la neoplasia de forestomach de ratón inducido por pyrene Benzo (A) por dienoic conjugados derivados del ácido linoleico" Cancer research, American association

5 En consecuencia, el índice de degradación oxidativa del CLA está determinado por muchos factores, como es la activación de la energía, el potencial de óxido-reducción, la temperatura, el oxígeno disponible y la matriz en la que se encuentra.

Así, el CLA no puede ser añadido a ciertos alimentos ya que tras el procesamiento que estos sufren, llegan degradados al consumidor final, perdiendo sus propiedades beneficiosas sobre la reducción de la grasa corporal y activación del metabolismo lipídico.

10 En la presente invención se consigue solucionar este problema técnico, ya que mediante la composición objeto de la presente invención que comprende una mezcla de los isómeros bioactivos y aceite de oliva rico en antioxidantes, en una matriz de enlatado que comprende un túnido, se consigue mejorar la estabilidad oxidativa de los isómeros bioactivos del CLA tras el proceso de esterilización y almacenamiento de dichos enlatados.

15 Así, la estabilidad oxidativa obtenida del CLA mezclado con aceite sometido a procesos térmicos encuentra aplicación en productos pesqueros que comprenden un túnido que son sometidos a proceso de esterilización (116°C durante 45 minutos).

20 Es objeto de la presente invención una composición a base de ácido linoleico conjugado que se mantiene estable durante el procesamiento y almacenamiento de enlatados que comprende un túnido. La composición de la presente invención supera a lo ya conocido ya que no se degrada en el tiempo (almacenamiento prolongado) ni durante el tratamiento térmico que tiene lugar en el procesamiento de la latas (116° C durante 45 minutos) a la vez que los isómeros bioactivos del CLA se mantienen estables en la matriz alimentaria de túnido.

25 En concreto, la presente invención se refiere a una composición en base a ácido linoleico conjugado que comprende una proporción entre 7.5 y 15% de los isómeros bioactivos del CLA al 50:50 en aceite de oliva que permanece estable durante el procesado y almacenamiento de productos enlatados que comprenden un túnido, de tal manera que la composición tiene efecto beneficioso esperado en el organismo sobre la reducción de la grasa corporal y activación del metabolismo lipídico tras el consumo habitual de dichos enlatados.

30 Además, se proporciona una composición estable en una matriz alimentaria que comprende un túnido y que no presenta ninguna diferencia sensorial con respecto a los enlatados que comprenden túniditos que no incorporan CLA, ya que, según el análisis hedónico, todas las muestras se consideraron como buenas, no detectando los catadores diferencias para los parámetros evaluados (apariencia, olor, sabor y textura) en las muestras de túniditos con y sin CLA.

DESCRIPCION DE LA INVENCION

35

Conocida la degradación de los isómeros bioactivos del ácido linoleico conjugado a altas temperaturas, se ha producido que éstos permanezcan estables en un producto en lata a base de túniditos.

Se estudió la degradación en el contenido de isómeros bioactivos del CLA (*cis-9*, *trans-11* y *trans-10*, *cis-12*, *c18:2*) en una lata de túniditos debidas al proceso de esterilización y el almacenamiento.

40 Para ello se puso a punto la metodología analítica adecuada para la identificación y cuantificación de los isómeros bioactivos del CLA identificados con patrones de referencia por tiempo de retención en cromatografía de gases con detector FID.

45 Por otra parte, han sido tenidas en cuenta las interacciones entre los ingredientes que conforman la nueva conserva y se ha garantizado que dicha mezcla consigue mejorar la estabilidad de los isómeros bioactivos del CLA incorporados.

La mezcla del CLA con aceite de oliva rico en antioxidantes, en la composición que se reivindica en esta invención, mantiene estables los isómeros bioactivos del CLA, evitando la degradación oxidativa, a

temperaturas de procesamiento de las latas, esterilización a 116° C durante 45 minutos, estables al almacenamiento y estables en la matriz de túnido enlatado.

5 Así, la composición objeto de la invención es una composición en base a ácido linoleico conjugado que comprende una proporción entre 7.5 y 15% de los isómeros bioactivos del CLA al 50:50 en aceite de oliva que permanece estable durante el procesado y almacenamiento de productos enlatados que comprenden un túnido.

Con la composición objeto de la invención, se han minimizado las pérdidas en el contenido en isómeros bioactivos del CLA (*cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12, c18:2*) tras el proceso de esterilización repartidas de forma equitativa para ambos isómeros.

10 Tras el proceso de esterilización, las latas con el túnido con aceite de oliva y CLA fueron almacenadas a temperatura ambiente con el objetivo de determinar el contenido en isómeros bioactivos del CLA en la lata de túnido a lo largo del almacenamiento.

Durante los nueve primeros meses de almacenamiento no se observó una reducción en el contenido de los isómeros *cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12 c18:2*.

15 De este modo se garantiza que la lata de túnido incorpora la cantidad efectiva de isómeros bioactivos de CLA para conseguir una mejora en la reducción de grasa corporal tras el consumo del producto diseñado.

20 Por tanto, se consigue aportar una composición que permanece estable al procesado (esterilización a 116°C durante 45 minutos), así como una composición que permanece estable al almacenamiento, no alterándose ni degradándose dichos isómeros, conservando sus propiedades de reductos de masa corporal.

25 Además, fue evaluado en diferentes ensayos la variabilidad del contenido de CLA de un lote a otro, para comprobar que la cantidad de CLA era repetitiva. En todos los ensayos, el contenido de CLA en las latas fue suficiente para alcanzar el rango en el cual estos isómeros de CLA tiene efectos beneficios para la salud en los seres humanos.

Adicionalmente, se ha demostrado la potencialidad de las conservas de túnidicos con CLA a través de un ensayo de intervención nutricional en donde se ha valorado el impacto sobre la reducción de grasa corporal en los voluntarios que consumieron una lata diaria del nuevo producto dentro de una dieta de restricción calórica.

30 Se realizó un ensayo de intervención nutricional con el objetivo de demostrar el efecto sobre la reducción de grasa corporal tras el consumo diario del atún en conserva que incorpora ácido linoleico conjugado.

35 Como resultado del estudio de intervención nutricional en humano se concluyó que el consumo de dicho enlatado que comprende un túnido, que contiene una composición entre 7.5 y 16% de CLA en una proporción del 50:50 de los dos isómeros bioactivos, *cis-9, trans-11 y trans-1º, cis-12*, en aceite de oliva, durante 10 semanas fue capaz de provocar cambios favorables en la composición corporal de individuos con sobrepeso-obesidad sometidos a restricción energética controlada, detectados mediante DEXA.

El método DEXA de análisis de la composición corporal fue capaz de detectar diferencias significativas en el porcentaje de grasa corporal total y grasa tróncala (reducción significativa en ambas medidas en los participantes que recibieron CLA), respecto a los participantes que no ingirieron CLA.

40 En resumen, la presente invención se refiere a una composición a base de ácido linoleico conjugado para productos enlatados que comprenden un túnido caracterizada porque comprende entre un 7.5 y 15% de los isómeros bioactivos del CLA al 50:50 en aceite de oliva.

Así, la formulación resultante consigue que el CLA, susceptible de ser degradado con altas temperaturas y largos periodos de almacenamiento, sea estable en el producto final desarrollado.

45 DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Se complementa la presente memoria descriptiva, con un juego de planos ilustrativos del ejemplo preferente y nunca limitativo de la invención.

5 La figura 1 muestra una gráfica de la valoración sensorial de las muestras de enlatados de túnidos con CLA y aceite de oliva. En el eje de ordenadas se representan la escala hedónica con valores de 1 a 9, en donde las muestras con mayor puntuación fueron mejor aceptadas. El eje de abscisas representa con un 1 la apariencia, con un 2 el olor, con un 3 el sabor, con un 4 la textura y con un 5 la media. La columna rayada representa el atún enlatado con aceite de oliva como medio de cobertura. La columna de puntos representa el atún enlatado con aceite de oliva y CLA como medio de cobertura.

10 La figura 2 muestra una gráfica en la que se representa el contenido total de los dos isómeros bioactivos de CLA en gramos isómero bioactivo /lata tras el procesado y a lo largo del periodo de almacenamiento a temperatura ambiente. El eje de abscisas representa los meses de almacenamiento. El tiempo cero supone el comienzo del estudio y por tanto son productos que contiene el 100% de la dosis efectiva de CLA por lata.

15 La figura 3 muestra una gráfica en la que se representa el contenido de cada uno de los isómeros bioactivos de CLA en g/lata por separado, tras el procesado y a lo largo del periodo de almacenamiento.

La columna rayada representa el contenido del isómero bioactivo *cis-9, trans-11* y la columna con puntos representa el isómero bioactivo *trans-10, cis-12*. Al igual que en la gráfica anterior, el eje de abscisas representa los meses de almacenamiento.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

20 Para la determinación de la composición en base a CLA objeto de la invención, se han llevado a cabo experimentos de laboratorio que ponen de manifiesto como sus propiedades superan a las obtenidas en el estado de la técnica, ya que se consigue una composición que permanece estable durante el procesamiento y almacenamiento de enlatados de túnidos.

25 Para llevar a cabo estos experimentos, se prepararon muestras de *Thunnus obesus* en lata. El aceite de cobertura seleccionado fue aceite de oliva, con alto contenido en antioxidantes.

El proceso de elaboración de las latas de atún en la planta industrial se desarrolló de la siguiente manera.

Se añaden a cada lata que comprende un túnido, la composición entre el 7.5 y 15% de los isómeros bioactivos del CLA al 50:50 en aceite de oliva, se añaden agua y continúan el proceso industrial de enlatado.

30 A continuación las latas van al autoclave. El proceso de esterilización se llevó a cabo en un autoclave durante 45 minutos a 116°C.

35 Este aceite de oliva tiene una composición del 97% aceite de oliva refinado, 3% virgen extra y cumple la norma recogida en la normativa CE-2568/91 y sus posteriores modificaciones. Es adecuado para la producción de latas de pescado de buena calidad, libre de productos clorados (percloroetileno, tricloroetileno y cloroformo) y aceites esterificados o aceite.

La forma de envasado fue la siguiente: lata modelo RO-85 tienen 65.15 ±0.2mm de diámetro y 34.30 ±0.1 mm de alto.

40 Para evaluar el efecto del proceso de esterilización sobre el componente bioactivo, en las muestras de atún en lata, se comparó la cantidad inicial de CLA en el aceite de partida con respecto a la cantidad presente en el aceite de cobertura y en la pastilla de atún tras el proceso de esterilización.

Así, en la presente memoria, definiremos medio de cobertura como el aceite que queda en la lata y no ha sido absorbida por el túnido una vez que ha tenido lugar el procesado.

45 Se determinó la influencia del proceso de esterilización y conservación del nuevo producto diseñados sobre la estabilidad de los isómeros bioactivos del CLA en el atún de modo que se garantice la presencia del componente bioactivo en el producto final , para lo cual se ha puesto a punto la metodología analítica necesaria que se detalla a continuación.

ES 2 555 211 T3

Caracterización de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa en el medio de cobertura y en el atún tras el proceso de esterilización:

5 Para evaluar el efecto del proceso de esterilización sobre el componente funcional, en las muestras de atún en lata, se analizó la cantidad presente en el aceite de cobertura y en la pastilla de atún tras el proceso de esterilización.

10 Los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gases. Los metil-esteres de ácidos grasos (FAMES) se prepararon según la metodología de Zabala et al. (2006). Los FAES se analizaron en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies) con un detector de ionización en llama (FID). La separación de los FAMES se llevó a cabo con una columna capilar HP-Innowax (30m x 0.32mm i.d. x 0.25 µm, Agilent Technologies, Inc. (California, USA)). La columna se mantuvo a 150°C durante 1 minuto tras la inyección, después se incrementó la temperatura a 200°C a una velocidad de 15°C/min, después a 250°C en 2°C, y finalmente se mantuvo en esta temperatura por 10 minutos. El Helio fue usado como gas portador a un flujo constante de 1mL/min. El volumen de inyección fue 1 µL. Los isómeros bioactivos de CLA fueron identificados por comparación de los tiempos de retención obtenidos mediante estándares comerciales, suministrados por Larodan Fine Chemicals (Malmö, Sweden).

15 Los resultados obtenidos muestran que antes del proceso de esterilización, el 67% de los isómeros bioactivos del CLA se encontraban en el aceite de cobertura, mientras que el resto (el 33% de los isómeros bioactivos del CLA) fueron absorbidos por el túnido.

20 Después del proceso de esterilización, la distribución varía ligeramente: el 75% de los isómeros bioactivos del CLA se encontraron en el aceite de cobertura, mientras que el resto, el 25%, permaneció en el túnido.

Así debido al proceso de esterilización, se da un aumento del contenido de isómeros bioactivos del CLA en el aceite de cobertura en comparación con el contenido analizado en el túnido.

25 Se llevaron a cabo diferentes estudios para evaluar la estabilidad de los isómeros activos de CLA incorporados en el producto mediante determinación del contenido en cada uno de los isómeros bioactivos del CLA analizados por cromatografía de GS-FID. Se replicaron los ensayos lo que permitió la confirmación de los resultados. Tal como se refleja en las figuras 2 y 3, los resultados confirman que el contenido de los isómeros activos de CLA por lata no disminuye durante el periodo de almacenamiento.

30 En consecuencia, se puede considerar que los isómeros bioactivos del CLA permanecen estables y no sufren una degradación oxidativa en la matriz alimentaria a la que se han incorporado, ni tras el proceso de esterilización y almacenamiento.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Composiciones a base de ácido linoleico conjugado para productos enlatados que comprenden al menos un túnido caracterizada porque comprende entre un 7.5 y un 15% de los isómeros bioactivos del CLA al 50:50 en aceite de oliva.
- 2.- Composición según reivindicación 1, caracterizada porque el aceite de oliva presenta una composición de 97% aceite de oliva refinado y 3 de aceite de oliva virgen extra.
- 3.- Composición según reivindicación 1, caracterizada porque el túnido es Thunnus obesus
- 10 4.- Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para uso como reductor de la grasa corporal y activador del metabolismo lipídico.

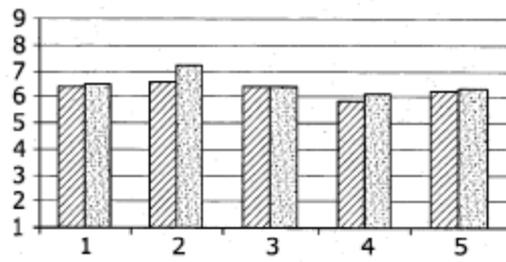


FIG.1

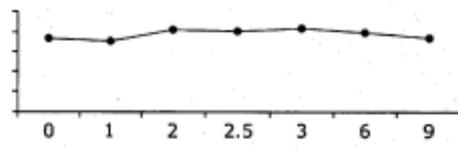


FIG.2

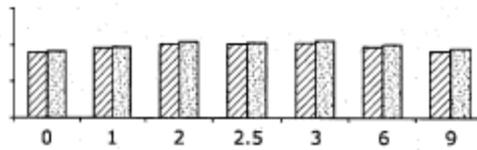


FIG.3